

MARCIA OLIVEIRA LOPES

**LEVANTAMENTO DO USO E DETECÇÃO DA PRESENÇA DE
ANTIMICROBIANOS NO LEITE PRODUZIDO NA REGIÃO
METROPOLITANA DE CURITIBA - PR**

Dissertação apresentada como requisito parcial à
obtenção do grau de Mestre, Curso de Pós-
Graduação em Ciências Veterinárias, Setor de
Ciências Agrárias, Universidade Federal do
Paraná.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Lys Mary Bileski Cândido

**CURITIBA
2002**



PARECER

A Comissão Examinadora da Defesa de Dissertação da Candidata ao Título de Mestre em Ciências Veterinárias, Área Produção Animal **MARCIA OLIVEIRA LOPES** após a realização desse evento, exarou o seguinte Parecer:

- 1) A Tese, intitulada **“Levantamento do Uso e Detecção da Presença de Antimicrobianos no Leite Produzido na região Metropolitana de Curitiba PR”** foi considerada, por todos os Examinadores, como um louvável trabalho, encerrando resultados que representam importante progresso na área de sua pertinência.
- 2) A Candidata se houve muito bem durante a Defesa de Dissertação, respondendo a todas as questões que foram colocadas.

Assim, a Comissão Examinadora, ante os méritos demonstrados pela Candidata, atribuiu o conceito "A" concluindo que faz jus ao Título de Mestre em Ciências Veterinárias, Área de Produção Animal.

Curitiba, 25 de Janeiro de 2002.

Profa. Dra. LYS MARY BILESKI CANDIDO
Presidente/Orientador

Prof. Dr. EDSON GONÇALVES DE OLIVEIRA
Membro

Prof. Dr. PAULO ROBERTO DALSENTER
Membro

DEDICO

A meus pais Eloísa (*in memoriam*) e Joaquim, cujo amor e sabedoria me
presentearam.

AGRADECIMENTOS

A todos que, direta ou indiretamente contribuíram para a realização e divulgação deste trabalho, que embora esteja em meu nome é fruto da ação de muitos.

Meu especial agradecimento aos produtores que participaram desta pesquisa, sem a qual esta não seria possível.

À 2ª Regional de Saúde / SESA, pela compreensão e apoio dos colegas e direção.

Ao Departamento de Saúde Comunitária / UFPR, pela compra de parte do kit para as análises de detecção de resíduos.

À equipe do Programa de Análise de Rebanhos Leiteiros do Paraná / APCBRH, pela realização das análises e pela acolhida amiga.

Ao Josué Furtado da Hexis Científica, pela doação de parte do kit para as análises de detecção de resíduos.

Aos médicos veterinários Marcelo Rocha e Antônio Carlos da Frimesa, pelo apoio junto as visitas nas propriedades.

Aos laticínios Berleze, Campolati, Frimesa, Pousada Alegre e Rubhan, pelo apoio nas coletas de amostras e por terem aberto suas portas a este trabalho.

Aos professores e funcionários do curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.

Ao Lineu, Kátia, Patrícia, Ivana e Maria de Fátima, pela amizade e companheirismo.

À prof.^a Carla Carraro, pela realização das análises de resíduos e esclarecimentos técnicos.

Ao Darci Rodrigues, pela realização das análises, pelas valiosas contribuições e por acreditar.

Ao Sezifredo Paz e Maria Terezinha Carneiro, pela disponibilização de material bibliográfico.

Aos prof.^{os} Anselmo Duarte, Rodrigo Almeida e à Ângela Martins, pelo apoio na análise estatística.

À amiga Maria Simone Utida, pela revisão deste trabalho quanto às normas.

À amiga Viviane, pela ajuda na digitação.

Às amigas Lilian e Carla, pela participação direta nesta pesquisa, por compartilharem as inquietudes e os avanços e, por estarem sempre dispostas na construção deste conhecimento.

Ao prof.^o Paulo Dalsenter, que me instigou a este conhecimento e pelas suas importantes contribuições.

À prof.^a Lys Mary pela preciosa orientação, otimismo, confiança no meu trabalho e amizade.

À maravilhosa família que tenho nesta vida, da qual muito me orgulho, meu pai Joaquim, Rejane, meus irmãos Marcos, César, Marcelo e Fernando.

Aos meus filhos Aline, Andréia e Augusto e meu neto Vítor, as razões da minha vida.

À Deus, pela vida.

SUMÁRIO

LISTA DE QUADROS	VIII
LISTA DE TABELAS	IX
LISTA DE ILUSTRAÇÕES	XI
RESUMO	XIII
ABSTRACT	XIV
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DA LITERATURA	4
2.1 LEITE	4
2.1.1 Composição	4
2.2 QUALIDADE DO LEITE	5
2.2.1 Sistemas de Pagamento por Qualidade do Leite	6
2.3 MASTITE BOVINA	8
2.3.1 Definição	8
2.3.2 Diagnóstico	10
2.3.3 Contagem de Células Somáticas	11
2.4 ANTIBIÓTICOS E QUIMIOTERÁPICOS ANTIMICROBIANOS	13
2.5 RESÍDUOS ANTIMICROBIANOS NO LEITE	15
2.5.1 Fatores Envolvidos na Origem dos Resíduos Antimicrobianos no Leite ...	18
2.5.2 Avaliação dos Riscos Toxicológicos	22
2.5.3 Pesquisas sobre Resíduos Antimicrobianos no Brasil	25
2.5.4 Testes para a Detecção de Resíduos Antimicrobianos no Leite	26
2.6 IMPACTO NA SAÚDE PÚBLICA POR RESÍDUOS ANTIMICROBIANOS NO LEITE	32
2.6.1 Aspectos Imunopatológicos	32
2.6.2 Aspectos Toxicológicos	33
2.6.3 Aspectos Microbiológicos	35
3 MATERIAL E MÉTODOS	39
3.1 MATERIAL	39
3.1.1 Amostras	39
3.1.2 Kit Comercial para Detecção de Resíduos Antimicrobianos	39

3.1.3 Equipamentos Para Contagem de Células Somáticas - CCS e Determinação da Composição do Leite	39
3.1.4 Instrumento para Pesquisa de Campo	39
3.2 MÉTODOS	40
3.2.1 Definição da Amostragem	40
3.2.2 Pesquisa de Campo	40
3.2.3 Coleta de Amostras	42
3.2.4 Análise para Detecção de Resíduos Antimicrobianos no Leite	42
3.2.5 Análise de Contagem de Células Somáticas e Determinação da Composição do Leite	43
3.2.6 Análise Estatística	44
4 ANÁLISE DOS RESULTADOS	45
4.1 CARACTERIZAÇÃO DOS PRODUTORES	45
4.2 IDENTIFICAÇÃO DOS FATORES DE RISCO ASSOCIADOS AO USO DE ANTIMICROBIANOS	47
4.2.1 Assistência Veterinária	47
4.2.2 Procedimento de Ordenha no Tratamento	48
4.2.3 Descarte do Leite Apenas do Quarto Tratado	49
4.2.4 Destino do Leite Descartado no Tratamento	49
4.2.5 Terapia de Vacas Secas	50
4.2.6 Identificação dos Animais e Registro dos Dados do Tratamento	52
4.2.7 Realização de Exames de Mastite	53
4.2.8 Doenças em Vacas Leiteiras	55
4.2.9 Utilização de Medicamentos Antimicrobianos	56
4.3 AVALIAÇÃO DA INCIDÊNCIA DE RESÍDUOS ANTIMICROBIANOS	60
4.4 ANÁLISE COMPARATIVA DA AVALIAÇÃO DOS FATORES DE RISCO COM INCIDÊNCIA DE RESÍDUOS ANTIMICROBIANOS	64
4.5 RELAÇÃO DA INCIDÊNCIA DE RESÍDUOS ANTIMICROBIANOS NO LEITE COM CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS - CCS	65
4.6 EFEITO DA CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS SOBRE OS CONSTITUINTES DO LEITE	67
5 DISCUSSÃO	71

6 CONCLUSÃO	75
REFERÊNCIAS	77
APÊNDICES	88
ANEXO	119

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 - LIMITES MÁXIMOS RESIDUAIS (LMRs $\mu\text{g/kg}$) E SEGURANÇA / TOLERÂNCIA ($\mu\text{g/kg}$) PARA ANTIMICROBIANOS EM LEITE FIXADOS NAS DIFERENTES REGULAMENTAÇÕES - SITUAÇÃO EM 2001.....	24
QUADRO 2 - EXEMPLOS DE TESTES PARA DETECÇÃO DE RESÍDUOS DE ANTIMICROBIANOS DISPONÍVEIS NO MERCADO, SEGUNDO MÉTODO DE DETECÇÃO - 1998.....	29
QUADRO 3 - AMOSTRAGEM PELAS PROPORÇÕES	41
QUADRO 4 - PERÍODO DE CARÊNCIA E DOSAGEM RECOMENDADA- DOS MEDICAMENTOS VETERINÁRIOS UTILIZADOS PELOS PRODUTORES PESQUISADOS.....	101
QUADRO 5 - AVALIAÇÃO DO USO DE MEDICAMENTOS EM RELAÇÃO A DOSAGEM E CARÊNCIA UTILIZADA.....	106
QUADRO 6 - PERFIL DOS PRODUTORES ESTUDADOS EM RELAÇÃO A AVALIAÇÃO ANTIMICROBIANA / PROPRIEDADE	107
QUADRO 7 - FATORES DE RISCO EM RELAÇÃO A AVALIAÇÃO ANTI- MICROBIANA	108
QUADRO 8 - RESULTADO DOS TESTES APLICADOS NA COMPOSIÇÃO DOS DADOS EM RELAÇÃO A AVALIAÇÃO ANTIMICRO- BIANA	110
QUADRO 9 - ESTATÍSTICA DESCRITIVA DOS DADOS EM ESTUDO SEGUNDO OS INTERVALOS DE CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS	111
QUADRO 10 - CORRELAÇÃO ENTRE A CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS COM CONSTITUINTES DO LEITE	112
QUADRO 11 - CORRELAÇÃO ENTRE INTERVALOS DE CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS COM OS CONSTITUINTES DO LEITE	112

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 -	TIPOS DE USO DE ANTIBIÓTICOS EM VACAS LACTANTES E OCORRÊNCIA DE RESULTADOS POSITIVOS PARA A PRESENÇA DE RESÍDUOS DE ANTIBIÓTICOS EM AMOSTRAS APÓS O PERÍODO DE CARÊNCIA RECOMENDADO PELO FABRICANTE	20
TABELA 2 -	VIAS DE ADMINISTRAÇÃO DE ANTIBIÓTICOS PARA VACAS EM LACTAÇÃO E FREQUÊNCIA DA OCORRÊNCIA DE RESULTADOS POSITIVOS PARA RESÍDUOS DE ANTIBIÓTICOS EM AMOSTRAS DE LEITE COLETADAS APÓS O PERÍODO DE CARÊNCIA RECOMENDADO PELO FABRICANTE	20
TABELA 3 -	CARACTERIZAÇÃO DOS PRODUTORES, SEGUNDO VOLUME DE PRODUÇÃO, VACAS ORDENHADAS E VOLUME DE LEITE	45
TABELA 4 -	SISTEMA DE ORDENHA EM RELAÇÃO AO VOLUME DE PRODUÇÃO	46
TABELA 5 -	ASSISTÊNCIA VETERINÁRIA EM RELAÇÃO AO VOLUME DE PRODUÇÃO	47
TABELA 6 -	PROCEDIMENTO DE ORDENHA NO TRATAMENTO EM RELAÇÃO AO VOLUME DE PRODUÇÃO	48
TABELA 7 -	DESCARTE DO LEITE APENAS DO QUARTO TRATADO EM RELAÇÃO AO VOLUME DE PRODUÇÃO	49
TABELA 8 -	TERAPIA DE VACAS SECAS EM RELAÇÃO AO VOLUME DE PRODUÇÃO	51
TABELA 9 -	REGISTRO DE TRATAMENTO DOS ANIMAIS EM RELAÇÃO A IDENTIFICAÇÃO DOS ANIMAIS EM TRATAMENTO	52
TABELA 10 -	DADOS DO REGISTRO DO TRATAMENTO DOS ANIMAIS ...	53
TABELA 11 -	ANTIMICROBIANOS MAIS UTILIZADOS EM VACAS LACTANTES.....	57

TABELA 12 -	REALIZAÇÃO DE EXAMES DE MASTITE EM RELAÇÃO AO VOLUME DE PRODUÇÃO	105
TABELA 13 -	FREQÜÊNCIA DOS EXAMES DE MASTITE EM RELAÇÃO AO VOLUME DE PRODUÇÃO	105
TABELA 14 -	DOENÇAS EM VACAS LEITEIRAS	105
TABELA 15 -	AVALIAÇÃO ANTIMICROBIANA EM RELAÇÃO ÀS CONTAGENS DE CÉLULAS SOMÁTICAS	106

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 - SISTEMA INTEGRADO PARA CONTROLE DE ANTIMICROBIANOS NO LEITE	31
FIGURA 2 - COMPARAÇÃO DE CORES PARA DETERMINAÇÃO DO RESULTADO.....	43
GRÁFICO 1 - PERCENTUAL DE PRODUÇÃO LEITEIRA EM RELAÇÃO AO VOLUME DE PRODUÇÃO (L/DIA).....	46
GRÁFICO 2 - DESTINO DO LEITE DESCARTADO NO TRATAMENTO	50
GRÁFICO 3 - REGISTRO DE TRATAMENTO DOS ANIMAIS EM RELAÇÃO À IDENTIFICAÇÃO DOS ANIMAIS EM TRATAMENTO	52
GRÁFICO 4 - REALIZAÇÃO DE EXAMES DE MASTITE	54
GRÁFICO 5 - REALIZAÇÃO DE EXAMES DE MASTITE EM RELAÇÃO AO VOLUME DE PRODUÇÃO	54
GRÁFICO 6 - FREQUÊNCIA DOS EXAMES DE MASTITE EM RELAÇÃO AO VOLUME DE PRODUÇÃO	55
GRÁFICO 7 - DOENÇAS EM VACAS LEITEIRAS	56
GRÁFICO 8 - ANTIMICROBIANOS MAIS UTILIZADOS EM VACAS LACTANTES.....	57
GRÁFICO 9 - USO DE ANTIMICROBIANOS NAS PROPRIEDADES.....	58
GRÁFICO 10 - AVALIAÇÃO DA DOSAGEM APLICADA.....	59
GRÁFICO 11 - AVALIAÇÃO DA CARÊNCIA UTILIZADA	60
GRÁFICO 12 - INCIDÊNCIA DE ANTIMICROBIANOS NAS 320 AMOSTRAS ANALISADAS	61
GRÁFICO 13 - PROPRIEDADES COM PRESENÇA DE ANTIMICROBIANOS	61
GRÁFICO 14 - INCIDÊNCIA DE POSITIVIDADE PARA ANTIMICROBIANOS NAS QUATRO AMOSTRAS ANALISADAS	62
GRÁFICO 15 - NÚMERO DE AMOSTRAS POSITIVAS, SEGUNDO ETAPA DE COLETA	62
GRÁFICO 16 - PERCENTUAL DE AMOSTRAS POSITIVAS E NEGATIVAS PARA ANTIMICROBIANOS EM RELAÇÃO AO VOLUME DE PRODUÇÃO	63

GRÁFICO 17 - CARÊNCIA UTILIZADA EM RELAÇÃO À AVALIAÇÃO ANTI-MICROBIANA	65
GRÁFICO 18 - INTERVALOS DE CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS (X 1000 CÉL./ML).....	66
GRÁFICO 19 - AVALIAÇÃO ANTIMICROBIANA EM RELAÇÃO A CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS (X1000 CÉL./ML)	66
GRÁFICO 20 - PORCENTAGEM DE GORDURA EM RELAÇÃO A CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS	68
GRÁFICO 21 - PORCENTAGEM DE PROTEÍNA EM RELAÇÃO A CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS	68
GRÁFICO 22 - PORCENTAGEM DE LACTOSE EM RELAÇÃO A CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS	69
GRÁFICO 23 - PORCENTAGEM DE SÓLIDOS TOTAIS EM RELAÇÃO A CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS	69

RESUMO

A utilização de medicamentos antimicrobianos para o tratamento e prevenção de mastites em vacas leiteiras, com administração por qualquer via, pode ocasionar resíduos no leite e derivados. Resíduos antimicrobianos podem afetar a saúde humana nos aspectos imunopatológicos (reações de hipersensibilidade), toxicológicos (ações carcinogênicas e mutagênicas) e microbiológicos (aumento da resistência bacteriana). Os objetivos desse trabalho foram: identificar os riscos associados ao uso de antimicrobianos em vacas leiteiras, verificar a incidência desses resíduos no leite e correlacionar a presença de resíduos com a Contagem de Células Somáticas no Leite (CCS). O levantamento foi realizado durante o período de janeiro a maio de 2001 em 80 propriedades leiteiras da Região Metropolitana de Curitiba (RMC), definidas por amostragem proporcional, que considerou a produção leiteira e o número de produtores. Foi aplicado um questionário e coletadas quatro amostras de leite de tanque das propriedades, em intervalos variados. As análises foram realizadas no Laboratório do Programa de Análise de Rebanhos Leiteiros do Paraná com o kit comercial Charm Farm Test - VIAL, que se baseia na inibição de crescimento bacteriano (*Bacillus sterothermophilus* var. *calidolacts*) e por Somacount 500 – Contador Eletrônico de Células por Fluorescência-Bentley. Os produtores foram agrupados segundo o volume de produção. O estudo dos fatores de risco demonstrou que: em 85,0% das propriedades a assistência veterinária é ocasional, 41,3% dos produtores descartam o leite apenas do quarto tratado, o leite contendo resíduos de antibióticos é utilizado em 82,5% das propriedades para alimentação de bezerros. A identificação no tratamento é realizada em 15,0% das propriedades e o registro de dados em 31,2 %, de forma incompleta. A mastite foi a doença mais significativa, com 70,4% dos casos e o antimicrobiano mais utilizado foi a penicilina associada com 24,7%, seguida de aminoglicosídeo associado, oxitetraciclina e pirlimicina. Na avaliação do uso de antimicrobianos, 36,3% das propriedades utilizaram produtos proibidos para vacas lactantes. Quanto a dosagem aplicada pelos produtores, foi observado em 45,6% a superdosagem, em 30,1% uso de medicamentos não autorizados para vacas lactantes, 14,7% seguiram a bula e 9,6% praticaram subdosagem. O período de carência não foi respeitado em 16,8% dos casos. Foram detectados resíduos antimicrobianos em 75,0% das propriedades pesquisadas, com incidência entre 1 a 3 vezes nas 4 análises. Em 25,6% das 320 amostras analisadas houve presença de resíduos antimicrobianos. Na análise comparativa entre fatores de risco com incidência de resíduos não foi demonstrada diferença significativa, entretanto produtores que não respeitaram o período de carência apresentaram probabilidade limítrofe. Na avaliação da presença de resíduos com CCS ($\times 1000$ cél./mL), observou-se um maior número de amostras positivas (37,8%) em relação às negativas (26,1%) no intervalo entre 501 a 1000 cél./mL. Concluiu-se que o alto percentual de propriedades que apresentaram resíduos e o expressivo índice de amostras positivas, bem como a evidência de práticas que possam contribuir para a ocorrência de resíduos antimicrobianos no leite nas propriedades leiteiras da RMC podem acarretar conseqüentes riscos à saúde pública.

Palavras-chave: Resíduos Antimicrobianos; Leite; Saúde Pública; Fatores de Risco; Contagem de Células Somáticas.

ABSTRACT

The use of antibiotic therapy for the treatment and prevention of mastitis in dairy cows, with administration by any way, may cause residues in milk and milk products. Antimicrobials residues may affect the human being health in the immunopathological (hypersensitivity reactions), toxicological (mutant actions that might cause cancer) and microbiological (increase of bacterial resistance) aspects. The objectives of this work were: identify the risks associated to the use of antimicrobials in dairy cows, verify the occurrence of those residues in the milk and the relationship between the presence of such residues and the Somatic Cells Count (SCC). The study was made during the period from January to March 2001, in 80 dairy farms of Curitiba Metropolitan Area (CMA), defined by proportional sampling considering the milk production and the number of producers. A questionnaire was applied and collected four samples from the bulk tank for which one of the farms, in varied intervals. The analysis were carried out in the Dairy Herd Analysis Program Laboratory using the *Charm Farm Test* – VIAL commercial kit, based on the inhibition of bacterial growth (*Bacillus sterothermophilus* var. *calidolacts*), and by Somacount 500 – Cells Electronic Counter, by Bentley-Fluorescence. The producers were divided by the production volume. The analysis of the factors of risk showed that: in 85% of the producers the veterinarian assistance is occasional, 41,3% of the producers discard the milk only from the quarter treated, the milk containing antibiotics is used in 82,5% of the farms to feed the calves. The treatment identification is made in 15% of the farms and data record is incomplete in 31,2% of the cases. Mastitis was the most relevant disease in the 70,4% of the cases and penicillin associated was the most used antimicrobial with 24,7%, followed by aminoglycoside associated, oxytetracycline and pirlimicina. In the evaluation of antimicrobials handling, 36,3% of farms have used prohibited products for lactating cows. In the study of the applied dose by the producers 45,6% have used an overdose, 31,5% have used non-authorized medicine for lactating cows, 14,7% have followed the label and 9,6% have used underdose. The limit period for further milk was not respected in 16,8% of the cases. Antimicrobial residues were detected in 75,0% of the farms, with occurrence between 1 and 3 times in 4. In 25,6% of the 320 analyzed samples was detected the presence of antimicrobial residues. In the comparative analysis between the factors of risk with residues incidence was not shown significant difference, however producers that did not respect the limit period for further milk production presented limitrophe probability. In the evaluation of the presence of residues with SCC (x1000), was observed a bigger number of positive samples (37,8%) in relation with negative samples (26,1%) in the interval between 501 and 1000 cells/mL. One can conclude that the high percentage of farms that have presented residues and the expressive number of positive samples, as well as the evidences of practices allowing the occurrence of residues in the milk of CMA farms, may contribute to several risks to the public health.

Key-words: Antimicrobials residues, milk, public health, factors of risk, Somatic Cells Count (SCC).

1 INTRODUÇÃO

O leite é uma das mais completas fontes de nutrientes para os seres humanos. A quantidade e a disponibilidade de proteínas, cálcio e vitaminas do complexo B fazem dele um componente essencial na dieta, durante toda a vida das pessoas.

É um princípio universal que todos possuem o direito de consumir alimentos de boa qualidade. Esse por ser um produto perecível, é facilmente alterado por condições de deficiência na ordenha, estocagem, bem como na alimentação e manejo inadequados das vacas em lactação.

Os critérios desenvolvidos pelo *Codex Alimentarius* para o leite e produtos lácteos, visam assegurar os padrões higiênicos, incluindo baixas contagens bacterianas e ausência ou contagens muito baixas de patógenos prejudiciais à saúde humana. Outro objetivo do *Codex* para esta categoria de alimentos é o de evitar resíduos de medicamentos veterinários, contaminantes químicos e toxinas microbianas (GODKIN, 2000).

Os riscos de resíduos de medicamentos veterinários relacionam-se, especialmente ao uso de forma indiscriminada de quimioterápicos e antibióticos, na prevenção ou tratamento de mastites, bem como das infecções do trato reprodutivo de vacas leiteiras (SCHÄELLIBAUM, 2000b).

A presença desses resíduos no leite, além de ser um sério problema de saúde pública, ainda interfere diretamente na sua qualidade e nos processos industriais.

A saúde humana pode ser afetada por resíduos antimicrobianos nos aspectos toxicológicos, microbiológicos e no desenvolvimento de reações de hipersensibilidade. Autoridades em saúde pública e organizações de consumidores têm demonstrado preocupação com esses efeitos adversos (BRITO, 2000).

A preocupação crescente em nível mundial, sobre o uso de antibióticos em animais tem gerado fóruns de discussões quanto à segurança dos alimentos e determinação dos riscos à saúde humana. Comitês de especialistas, através de estudos científicos, têm revisados os Limites Máximos Residuais - LMRs desses medicamentos.

Com a globalização dos mercados, a qualidade e a segurança dos produtos agropecuários tornam-se fatores limitantes de crescimento no mercado mundial. Os países que não melhoram seus sistemas de controle de alimentos, arriscam perder os mercados de exportação (MONARDES, 1998).

Atualmente o maior produtor mundial de leite são os Estados Unidos da América, que obtiveram uma produção de 74,6 bilhões de litros em 2000, sendo que o Brasil ocupa a sexta posição com 20,1 bilhões de litros (PARANÁ, 2000a). Mesmo assim, o país ainda não alcançou auto suficiência nos produtos lácteos.

O Paraná é o quinto maior produtor nacional, estando em primeiro lugar Minas Gerais, seguido de Goiás, Rio Grande do Sul e São Paulo, respondendo por 9,9% do volume produzido no país (PARANÁ, 2000b).

Em 1999 o Paraná foi o segundo estado em crescimento, ficando atrás apenas de Goiás. A produção de leite no Paraná cresceu 167% nos últimos 10 anos (MILKPOINT, 2000).

O Programa Paranaense de Qualidade do Leite - PPQL, através do Conselho Estadual de Sanidade Agropecuária - CONESA, com a participação de representantes de diversas entidades, avaliou os pontos críticos na cadeia produtiva e propôs um plano de ação, visando colocar o Paraná na vanguarda nacional em relação à qualidade desse alimento e seus derivados (CONSELHO ESTADUAL DE SANIDADE AGROPECUÁRIA, 2000).

O Brasil, desde o início dos anos 90, vem passando por drásticas mudanças no sistema agroindustrial, onde ocorre diferenciação nos preços da matéria-prima, forte participação de empresas multinacionais no varejo e redução no número de produtores. Com isso ocorre crescimento acentuado do mercado informal e se agravam os problemas de qualidade dos produtos (OSTRENSKY, 1999).

O leite que chega às indústrias para processamento é resultado das práticas adotadas nas fontes de produção. Sendo assim, a baixa qualidade do leite no Brasil tem origem nas propriedades rurais, pois historicamente, os padrões de exigências mínimas para produção de leite tipo B e C são inferiores a vários países, tornando-se assim um produto com menor competitividade frente o atual contexto de liberalização dos mercados.

O levantamento do uso e detecção da presença de resíduos antimicrobianos no leite produzido na Região Metropolitana de Curitiba - PR - RMC, baseou-se na

necessidade de avaliação do uso desses medicamentos nas propriedades produtoras de leite, no sentido de subsidiar ações de orientação relacionadas às boas práticas na utilização desses produtos.

O presente trabalho teve como objetivo geral:

- Avaliar a contaminação por resíduos antimicrobianos no leite produzido na RMC.

Os objetivos específicos foram:

- identificar os fatores de risco associados ao uso de antimicrobianos em vacas leiteiras;
- verificar a incidência de resíduos antimicrobianos no leite produzido;
- relacionar a presença de resíduos antimicrobianos com a Contagem de Células Somáticas - CCS no leite.

Em paralelo, avaliou-se o efeito da contagem de células somáticas sobre os constituintes do leite.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 LEITE

O *Codex Alimentarius* define leite como a “secreção mamária normal de animais leiteiros obtida a partir de uma ou mais ordenhas sem nenhum tipo de adição ou extração, destinada ao consumo sob a forma de leite líquido ou à elaboração posterior” (CODEX ALIMENTARIUS, 1996).

No Brasil, através da Portaria nº 56 do Ministério da Agricultura e do Abastecimento - MAA, “entende-se por leite, sem especificar a espécie animal, o produto obtido da ordenha completa e ininterrupta, em condições de higiene, de vacas leiteiras sadias. O leite de outras espécies deve denominar-se segundo a espécie da qual proceda” (BRASIL, 1999a).

2.1.1 Composição

O leite é considerado uma emulsão estável de glóbulos de gordura e uma suspensão de micelas de caseína. Em solução encontram-se a lactose, as proteínas do soro e diversos minerais e vitaminas. Também encontram-se no leite outros elementos, tais como oligossacarídeos, metabólitos, células epiteliais, células bacterianas e leucócitos (MONARDES, 1998). O constituinte predominante é a água e as quantidades de proteínas, lipídios e carboidratos variam conforme a espécie, sendo sintetizadas nas glândulas mamárias (VARNAM e SUTHERLAND, 1995).

O leite de vaca contém cerca de 87,4% de água e 12,6% de sólidos totais, sendo que estes são formados por 3,5 a 3,9% de gordura, entre 3,2 a 3,5% de proteínas, aproximadamente 4,6 a 4,8% de lactose (anidra) e 0,9% de outros sólidos, como sais minerais, vitaminas etc (HARDING, 1995).

Os constituintes não aquosos se encontram presentes em diferentes formas físicas, sendo a lactose dissolvida, a proteína dispersa coloidalmente e o lipídeo emulsificado em água (HARDING, 1995).

A porcentagem de gordura é um dos componentes de maior variação no leite, com grande influência dos fatores genéticos e ambientais. Em vacas da raça holandesa este percentual varia de 2,2 a 4,0% (BLOCK, 2000).

A fração protéica do leite é constituída basicamente por caseína e lactoalbumina. A caseína corresponde a mais de 80% das proteínas totais do leite e a proporção da lactoalbumina varia, aumentando no início e final da lactação e diminuindo na metade (VARNAM; SUTHERLAND, 1995).

A lactose é considerada o principal constituinte sólido do leite, ocorrendo a sua diminuição no final da lactação e em animais com mastite. A redução da concentração desse açúcar reduz a capacidade de acidificação do leite (VARNAM; SUTHERLAND, 1995).

A composição celular do leite normal inclui leucócitos polimorfos nucleares, macrófagos, linfócitos, eritrócitos e células epiteliais, sendo essas denominadas células somáticas do leite. A Contagem de Células Somáticas - CCS é a soma dessas células presentes no leite (CULLOR et al., 1994).

Níveis baixos de complementos hemolíticos são fatores bactericidas naturais encontrados em vacas leiteiras durante todos os estágios da lactação (CULLOR et al., 1994).

Ocorrem mudanças na composição do leite associadas ao aumento das CCS, que se relacionam diretamente com a extensão do tecido mamário afetado no processo inflamatório. A concentração de lipídeos geralmente diminui como resultado da mastite, podendo ocorrer aumento por efeito da redução da quantidade de leite. Em relação às proteínas totais a influência é pequena, pois o decréscimo da síntese das mesmas na glândula mamária é compensado pela concentração de proteínas séricas no leite, por lesão da barreira lacto-sangüínea. Quanto à lactose, ocorre decréscimo na sua biossíntese e ao mesmo tempo reabsorção pela corrente sangüínea (MACHADO; PEREIRA; SARRÍES, 2000; SCHÄELLIBAUM, 2000a). Em relação ao cálcio há decréscimo na concentração, prejudicando as características de coagulação do leite (SCHÄELLIBAUM, 2000a).

2.2 QUALIDADE DO LEITE

MONARDES (1998) define como qualidade do leite, além das condições sanitárias, também suas propriedades nutricionais e composição, considerando os seguintes elementos: componentes lácteos; células somáticas; contagem bacteriana;

adulteração por água, resíduos de quimioterápicos e antibióticos; qualidade organoléptica e temperatura.

A qualidade do leite deve ser definida por parâmetros de composição e higiene. A composição é avaliada pelos teores de proteína, gordura, lactose, sais minerais e vitaminas. A higiene é influenciada, entre outros fatores, pela sanidade do rebanho, presença de microrganismos, odores estranhos e resíduos de antibióticos, desinfetantes, vermífugos e outros químicos (BRITO; DIAS, 1998).

2.2.1 Sistemas de Pagamento por Qualidade do Leite

Os sistemas de pagamento ao produtor pela qualidade do leite possuem dois objetivos básicos, que são o pagamento diferenciado de acordo com a qualidade do leite produzido e a aplicação de penalidades ou incentivos financeiros para a melhoria da qualidade do produto (HARDING, 1995).

Os esquemas de penalidades mais comuns são padronizados para melhorar a qualidade higiênica, controle de resíduos de antibióticos e células somáticas (HARDING, 1995).

Os sistemas de pagamento pela qualidade do leite consideram a composição, condições higiênicas e controle de resíduos.

Na avaliação da qualidade relacionada a composição muitos sistemas de pagamento, inicialmente consideraram apenas a gordura, devido a facilidade de análise desse componente em grande número de amostras. Com a evolução dos métodos analíticos, os sistemas de pagamento ampliaram-se ainda mais, com o propósito de estimular os produtores a melhorar a qualidade do leite para diferentes necessidades de mercado (HARDING, 1995; MEIRELES, 2000).

Atualmente a escolha dos constituintes do leite incluídos no esquema de pagamento variam em cada país, segundo o interesse das indústrias laticinistas. Nos Estados Unidos a inclusão da proteína como componente múltiplo de preços é adotado na maioria das regiões. Na Europa houve diminuição da ênfase para gordura e aumento da proteína. O mesmo aconteceu nos países escandinavos e no Canadá (MEIRELES, 2000).

No sistema de pagamento por qualidade são essenciais os aspectos higiênicos. A contagem padrão em placas é um bom indicador das práticas

higiênicas de ordenha. Produtores de leite que mantêm adequados níveis higiênicos podem apresentar contagens bacterianas inferiores a 10.000 UFC/mL de leite (PHILPOT, 1998).

Muitos países, como a Bélgica, Holanda, Inglaterra, Argentina, Canadá, Estados Unidos, entre outros, não apenas penalizam, mas premiam a alta qualidade higiênica (BRITO; DIAS, 1998; PHILPOT, 1998).

Sistemas de qualidade em relação ao controle de resíduos de antibióticos enfocam que o leite deve ser livre desses resíduos, tanto no aspecto tecnológico pela inibição de fermentos lácticos usados na produção de queijo e iogurte, como pelos problemas relacionados à saúde humana (PHILPOT, 1998).

Em relação aos limites máximos legais estabelecidos para resíduos antimicrobianos, pode existir discordância quanto aos seus valores para os riscos de reações toxicológicas. Entretanto, considerando que concentrações muito baixas desses resíduos podem inibir culturas lácteas, interferindo nos processos tecnológicos, são aceitos esses padrões mais restritos (HARDING, 1995).

A Portaria n.º 56 do MAA, acrescenta nos parâmetros de qualidade do leite cru, além das análises de rotina realizadas pelas indústrias, as análises qualitativas destinadas a mensurar gordura, proteína, sólidos totais, contagem bacteriana, contagem de células somáticas e análises de resíduos de antibióticos (BRASIL, 1999a).

BRITO e DIAS (1998), analisando a coletânea publicada pela Federação Internacional de Laticínios sobre sistemas de pagamento de leite praticados em 22 países, no período de 1992 a 1994, observaram grande variação entre os mesmos. Mesmo assim relataram pontos comuns de ênfase na proteína, aspectos higiênicos, células somáticas e resfriamento. As contagens de células somáticas e contagens totais de bactérias foram os critérios mais utilizados nos diversos países, como Austrália, Bélgica, Canadá, Reino Unido, Japão, Nova Zelândia, entre outros.

No Brasil o pagamento por qualidade propriamente dito é ainda recente e se baseia em poucos testes e requisitos que diferenciem efetivamente os produtos (FARINA, 1995).

Em relação à qualidade total na cadeia láctea, MEIRELES (2000) afirma que a qualidade higiênico-sanitária do leite cru deve ser a base da modernização nesse setor produtivo.

2.3 MASTITE BOVINA

2.3.1 Definição

O termo mastite refere-se à inflamação da glândula mamária, que em 90 a 95% dos casos é causada por microrganismos, caracterizando-se por alterações químicas, físicas e, de um modo geral, pelas modificações bacteriológicas do leite e por alterações patológicas do tecido glandular (BLOOD; RADOSTITS, 1991).

É importante avaliar o impacto econômico da mastite na indústria leiteira. Estimativas recentes sugerem que as perdas nos Estados Unidos pela mastite estão em torno de US\$ 185/vaca/ano, sendo que aproximadamente 66% dessas perdas são devidas à diminuição da produção de leite (HARMON, 1998). OTT e NOVAK (2001) demonstraram maior proporção de perdas com a mastite subclínica que foi em média US\$ 126/vaca/ano, enquanto na mastite clínica foi de US\$ 55/vaca/ano.

Em uma lactação um único quarto infectado pode reduzir de 10 a 12% a produção leiteira. Custos adicionais do descarte do leite, uso de antibióticos e descarte de vacas aumentam o custo em aproximadamente 700 litros de leite por vaca/ano em um rebanho (NATZKE, 1981).

A mastite bovina causa prejuízos econômicos que podem ser distribuídos percentualmente em torno de 70% relacionados a perdas de produção, aproximadamente 14% pelo envio prematuro de vacas ao abate, cerca de 8% em função de gastos com tratamento e honorários médico-veterinários e 7% pelo descarte do leite ou redução na sua classificação. Esta estimativa não considera as perdas por ocorrência de diarreia em bezerros alimentados com leite mastítico (GERMANO; GERMANO, 1995).

Quando ocorre mastite clínica são evidentes os sinais de processo inflamatório, com aumento da temperatura do tecido mamário, hiperemia, edema local e perda de função, com diminuição do volume ordenhado e alterações visíveis na composição e características físico-químicas do leite. Na mastite subclínica, embora não ocorram alterações visuais, ocorrem alterações na composição e características bioquímicas do leite, com aumento da contagem de células somáticas. A forma subclínica pode representar 90 a 95% do total de casos de mastite (BLOOD; RADOSTITS, 1991).

A mastite é considerada contagiosa ou ambiental, de acordo com as características dos agentes causadores.

Na mastite contagiosa as bactérias são transferidas da glândula infectada para a sadia por equipamento contaminado, através do bezerro na amamentação ou pelas mãos de ordenhadores, havendo transferência bacteriana de uma vaca para outra. Os microrganismos mais freqüentes são *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae*, patógenos de *habitat* preferencial no interior da glândula mamária. Esta mastite causa expressivas elevações de CCS, com muitos casos subclínicos e crônicos (CULLOR et al.; 1993; OSTRENSKY, 1999).

A mastite ambiental é causada geralmente por enterobactérias presentes no solo, piso, cama, barro, material fecal e fômites contaminados. Há descrição dessas mastites por *Escherichia coli*, *Enterobacter* sp, *Klebsiella* sp, *Pseudomonas* sp, *Staphylococcus* sp coagulase-negativos, *Streptococcus uberis* e *Streptococcus dysgalactiae*, entre outras. Este grupo mantém bactérias que podem ser eliminadas no leite de vacas infectadas, mantendo nichos alternativos dentro do hospedeiro ou no ambiente. Os casos são geralmente clínicos, agudos e de curta duração, e não estão associados a prolongadas elevações de CCS (CULLOR et al., 1993; BRAMLEY et al., 1996;).

Na inflamação da glândula mamária, um dos componentes iniciais da resposta inflamatória é o influxo de neutrófilos polimorfonucleares - PMN para o interior do órgão. Os PMN possuem a função de englobar e digerir as bactérias invasivas, podendo englobar também outras partículas do leite, como glóbulos de gordura e caseína. Os leucócitos no leite podem liberar substâncias específicas, que alteram a permeabilidade vascular, atraindo mais leucócitos para a área de infecção (HARDING, 1995).

O resultado da migração de PMN para o local da infecção é o aumento da CCS no leite. Em infecções bacterianas persistentes o número de leucócitos pode oscilar, porém se mantém alto. Mesmo após a bactéria ter sido eliminada da glândula a CCS pode permanecer alterada (HARDING, 1995).

Os PMN e os macrófagos representam mais de 80% das células de defesa encontradas no leite. Uma média de 50.000 a 200.000 dessas células por mililitro do produto pode ser encontrada no leite da glândula não infectada. Apesar das células fagocitárias não propiciarem barreira efetiva contra a infecção da glândula,

funcionam como um dispositivo de defesa precoce, tornando-se o leite mastítico rico nessas células (CULLOR et al., 1993).

As substâncias antibacterianas de ocorrência natural no leite de vaca são designadas como lacteninas e foram reconhecidas desde 1927 pelo relato de inibição estreptocócica no leite. Entre as lacteninas destacam-se complemento C, anticorpos, lisosimas, lactoferrinas, xantino oxidase. Esses inibidores naturais estão em geral, presentes no colostro e têm sua concentração aumentada nas inflamações mamárias (SANTOS, 1985; CULLOR et al., 1994; HILLERTON et al., 1998).

Estes compostos inibidores são termolábeis, podendo ser destruídos por aquecimento do leite a temperaturas de 68-74°C (TAMINE; ROBINSON, 1991).

A capacidade funcional das células responsáveis pela defesa da glândula mamária pode ser influenciada pelo estágio de lactação, tempo do período seco, base genética, composição da secreção e tipos de antibióticos empregados (CULLOR et al., 1993).

2.3.2 Diagnóstico

O diagnóstico da mastite clínica pode ser realizado pelo próprio exame clínico e pela utilização da caneca de fundo escuro ou telada, onde evidencia-se a presença de grumos e sangue.

A mastite subclínica necessita de testes indiretos para a sua identificação, podendo ser realizada através de análises microbiológicas, métodos químicos indiretos, tais como: *California Mastitis Test* (CMT), *Wiscosin Mastitis Test* (WMT), Condutividade Elétrica e a CCS. Estes métodos diagnósticos baseiam-se geralmente na avaliação do aumento das células somáticas do leite (OSTRENSKY, 1999; FONSECA; SANTOS, 2000).

O *California Mastitis Test* - CMT é um teste amplamente utilizado no Brasil e no mundo e baseia-se na estimativa do aumento das células somáticas no leite. O leite de cada quarto é testado individualmente, com uma bandeja própria e reagente. O reagente em contato com o leite rompe a membrana celular dos leucócitos, apresentando viscosidade. O gel formado, cuja concentração é proporcional ao número de células somáticas, é analisado em cinco categorias: negativo, traços, +,

++ e +++. Apesar da possibilidade de erros nas dosagens de reagente e leite, bem como pelas variações de interpretação do teste que podem ocorrer durante sua leitura por diferentes técnicos e leigos, é um meio de diagnóstico rápido do quarto acometido de mastite subclínica (BRITO et al., 1997; FONSECA; SANTOS, 2000).

A Contagem Eletrônica de Células Somáticas - CECS é um teste rápido e preciso para determinação de mastite e verificação da qualidade do leite. Nele podem ser analisadas amostras compostas extraídas de vacas individualmente ou de tanque, que são avaliadas por métodos fluorométricos (FONSECA; SANTOS, 2000; GODKIN, 2000).

2.3.3 Contagem de Células Somáticas

A Contagem de Células Somáticas - CCS é composta do total de células presentes no leite, podendo ser epiteliais e de defesa. As células epiteliais correspondem de 2 a 25% e têm origem da descamação normal do tecido de revestimento e secretor interno da glândula mamária. As células de defesa são os leucócitos e correspondem de 75 a 98% do total (HARMON, 1998). Portanto, a CCS detecta o aumento das células de defesa no leite, sendo que no início do processo inflamatório mais de 90% podem ser neutrófilos (HARMON, 1998; DÜRR, 2000).

Certamente o principal fator que afeta a CCS é a infecção da glândula mamária, que por sua vez influencia a CCS dos quartos individuais e dos níveis do tanque. A CCS do leite de vacas individuais indica o grau de infecção da glândula mamária, enquanto do tanque de resfriamento do rebanho demonstra a incidência média de mastite do rebanho (SMITH, 1996; DÜRR, 2000; MACHADO; PEREIRA; SARRÍES, 2000). Outros fatores, como número de lactações, estágio da lactação e estação do ano exercem uma menor influência (SMITH, 1996; FONSECA; SANTOS, 2000).

Consequentemente, uma alta CCS é a expressão direta da severidade de um processo inflamatório, onde além da indicação de mastite está intimamente relacionada com a qualidade composicional do leite (diminuição da caseína, cálcio, fósforo, lactose e gordura), redução no rendimento industrial dos derivados lácteos, diminuição da vida de prateleira dos produtos e alteração nas condições organolépticas (ZECCONI, 1996; LARANJA, 1998).

Muitas pesquisas sugerem que vacas com CCS abaixo de 200.000 cél./mL provavelmente não estejam infectadas, enquanto vacas com CCS igual ou acima de 300.000 cél./mL possam estar. Alguns estudos fixaram o valor limite para CCS indicando mastite em 200.000, 250.000 ou 283.000 cél./mL, no entanto o valor referencial considerado é de 250.000 cél./mL para avaliação dos padrões fisiológicos (SMITH, 1996; SCHÄELLIBAUM, 2000a)

Portanto, mesmo sendo o valor de 250.000 cél./mL, o resultado utilizado estatisticamente para indicar presença ou ausência de mastite, um pequeno percentual de vacas infectadas pode apresentar valores inferiores de CCS. Além disso, algumas vacas infectadas com patógenos menos freqüentes, em especial por estafilococos coagulase negativo, terão CCS muito acima de 250.000 cél./mL (SMITH, 1996).

Estudos recentes têm estimado as perdas na produção do leite correlacionado com CCS e industrialização do leite. Dados dos EUA e de outros países, como a Itália, têm demonstrado essa relação. Portanto é possível assegurar que um aumento de CCS acima de 100.000 cél./mL está associado a um progressivo decréscimo na industrialização do leite (ZECCONI, 1996).

A CCS de tanque é utilizada para avaliar o controle de mastite do rebanho leiteiro, para estabelecer programas de pagamento do leite por qualidade e para monitorar as condições de higiene durante a produção. A União Européia estabeleceu como valor limite para CCS 400.000 cél./mL, o Canadá 500.000 e os EUA 750.000 cél./mL (SMITH, 1996; PHILPOT, 1998).

A nova legislação do Ministério da Agricultura limita os valores de CCS em 400.000 cél./mL, considerando um período de adaptação para as diferentes regiões. Essa portaria determina que as CCS/mL, para produtores individuais, sejam sobre as análises de tanques, com o uso de média geométrica sobre o período de 4 meses, com o mínimo de 2 análises por mês (BRASIL, 1999a).

Rebanhos com baixas CCS em tanques tratam um menor número de vacas em lactação, apresentando um menor risco de resíduos por antibióticos, baixa contagem padrão em placas e poucos problemas com infração no ponto de congelamento (SARGEANT; SCHUKKEN; LESLIE, 1998; SAVILLE; WITTUM; SMITH, 2000).

Uma pesquisa nos EUA realizou comparações de rebanhos de CCS do tanque abaixo de 400.000 cél./mL, com rebanhos entre 400.000 e 750.000 cél./mL e superior a 750.000 cél./mL, os quais apresentaram 2,2 e 4,7 vezes mais riscos de violação pela presença de resíduos de antibióticos (SAVILLE; WITTUM; SMITH, 2000).

2.4 ANTIBIÓTICOS E QUIMIOTERÁPICOS ANTIMICROBIANOS

Antibióticos e quimioterápicos antimicrobianos são utilizados no tratamento de animais individualmente para doenças específicas e na prevenção de doenças. Estes produtos foram utilizados no tratamento de vacas leiteiras, quase imediatamente após serem descobertos; as sulfonamidas desde 1930 e penicilinas desde 1940. A evolução do uso de antimicrobianos em animais domésticos tem acompanhado o desenvolvimento e utilização terapêutica desses agentes na medicina humana (INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION, 1997).

Os antibióticos são compostos produzidos por bactérias e fungos, que em altas diluições inibem outros microrganismos. Atualmente muitos antibióticos são produzidos de forma semi-sintética, por modificações químicas de compostos que ocorrem naturalmente, ou completamente sintetizados, como é o caso do cloranfenicol. Por outro lado, o quimioterápico antimicrobiano é considerado toda droga sintetizada quimicamente que apresenta propriedades antimicrobianas, como as sulfonamidas (SNYDER; FINCH, 1996).

Os antimicrobianos diferem nas suas propriedades físicas, químicas e farmacológicas, no espectro antibacteriano e nos mecanismos de ação (CHAMBERS; SANDE, 1996). Eles afetam as células dos microrganismos interferindo em um ou mais dos seguintes processos: síntese protéica, manutenção da integridade da membrana celular, síntese da parede celular, estrutura e função do ácido nucléico, produção do ácido fólico ou algum outro metabólito chave (SNYDER; FINCH, 1996).

A ação bactericida ou letal aos microrganismos pode ocorrer pela capacidade do agente antimicrobiano de alterar quimicamente sua parede ou membrana celular. Também pode ocorrer lise celular devido a alta pressão osmótica interna das bactérias, destruição por enzimas autolíticas ou na interferência da

reprodução e da tradução do ácido desoxirribonucleico (DNA). Os efeitos bacteriostáticos resultam de alterações reversíveis nos microrganismos, como exemplo: a inibição do ácido fólico pelas sulfonamidas pode ser revertida pela remoção da droga. O método de ação e a concentração determinam a ação inibitória ou letal do composto (SNYDER; FINCH, 1996).

O mecanismo de ação é uma das formas de classificar os antibióticos. Entre os inibidores da síntese protéica estão as tetraciclínas, aminoglicosídeos, macrolídeos, clindamicina e cloranfenicol. Os antibióticos β -lactâmicos e a vancomicina são inibidores da síntese da parede bacteriana. As fluorquinolonas e a rifampicina são inibidoras da função ou da síntese dos ácidos nucleicos. No grupo dos inibidores de metabólitos estão as sulfonamidas e o trimetoprim (HARVEY; CHAMPE, 1998).

Os antibióticos β -lactâmicos são representados principalmente pelas penicilinas e cefalosporinas, tendo como componente essencial do núcleo um anel β -lactâmico. Nesse anel situa-se a atividade antimicrobiana dos mesmos. Muitos desses fármacos são inativados por ácidos ou enzimas (β -lactamases), formando ácido penicilínico, o que limita a eficácia desses antimicrobianos (MANDELL; PETRI, 1996).

O grupo dos antibióticos tetraciclínicos possuem amplo espectro, com atividade contra microrganismos aeróbios e anaeróbios, gram-positivos e gram-negativos, riquetsias, micoplasmas e clamídias. Entretanto, são considerados agentes de segunda linha devido ao fator bacteriano R de resistência às tetraciclínas, que se desenvolve rapidamente e persiste por longos períodos (KAPUSNIK-UNER; SANDE; CHAMBERS, 1996; TAVARES, 1996).

Os antibióticos aminoglicosídeos freqüentemente utilizados em medicina veterinária são a estreptomicina, a dihidroestreptomicina, a neomicina, a gentamicina, a canamicina e a espectinomicina. Este grupo possui propriedades farmacológicas, espectro bacteriano e efeito tóxico semelhantes, possuindo efeitos bactericidas (BOOTH; McDONALD, 1992).

Na Europa, em 1997, segundo levantamento realizado pela Federação Européia para Saúde Animal - FEDESA, o volume total de antibióticos vendidos foi de 10.493 toneladas de ingredientes ativos, os quais representaram

percentualmente 52% para uso em saúde humana, 33% para uso em saúde animal e 15% como promotores de crescimento. Analisando as classes de antimicrobianos mais vendidos para uso em saúde animal, a tetraciclina ocupou o primeiro lugar, com 66%, em segundo os macrolídeos com 12% e em terceiro a penicilina com 9% (SCHWARZ; CHASLUS-DANCLA, 2001).

No Brasil, segundo a indústria de fármacos veterinários, em 1998 os antibióticos mais vendidos para bovinos de leite foram os β -lactâmicos, com 55,7%, oxi e tetraciclina LA (longa duração) com 37,8%, oxi e tetraciclina com 5,8% e gentamicinas com 0,7% (OLIVEIRA; CARNEIRO, 2000).

2.5 RESÍDUOS ANTIMICROBIANOS NO LEITE

Resíduo de medicamento veterinário compreende “a fração da droga, seus metabólitos, produtos de conversão ou reação e impurezas que permanecem no alimento originário de animais tratados” (BRASIL, 1999b).

O leite pode ser contaminado por uma ampla variedade de resíduos químicos provenientes do tratamento de vacas, alimentação, ambiente de ordenha, bem como pela contaminação de pastagens. Os antimicrobianos são um grupo de contaminantes de importância crescente (HARDING, 1995).

Antimicrobianos são amplamente utilizados na produção animal com diversas finalidades. No tratamento de doenças infecciosas de origem bacteriana são utilizados os antibióticos e quimioterápicos, no controle de ectoparasitas os pesticidas, nas endoparasitoses os vermífugos e nos processos de limpeza e desinfecção são usados os detergentes e desinfetantes (BRITO; DIAS, 1998).

Antibióticos e quimioterápicos podem ser utilizados em quantidades terapêuticas para tratamento e prevenção de doenças, ou em quantidades sub-terapêuticas, como promotores de crescimento. Nas patologias infecciosas agudas o período de uso varia geralmente entre um a sete dias. Na prevenção de doenças ou como promotores de crescimento, o período de administração é longo, podendo estar presente em grande parte da vida do animal (GALLINA et al., 1998; BRITO, 2000; LATHERS, 2001).

Conforme abordado anteriormente, a mastite é a doença mais comum nas vacas leiteiras e requer medicação antimicrobiana. Em muitos países mais de 50%

das vacas têm mastite subclínica. Embora os resultados terapêuticos obtidos com antimicrobianos não sejam bons, como por exemplo a taxa de cura de infecções estafilocócicas que é em torno de 40%, estes são utilizados amplamente e têm aumentado o risco de resíduos (INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION, 1997). Entretanto, qualquer patologia em vacas lactantes com uso de antimicrobianos em diferentes vias de administração, pode gerar resíduos no leite como resultado da absorção pela corrente sanguínea e posterior passagem para o mesmo (FONSECA; SANTOS, 2000).

A preocupação em avaliar o controle sobre o uso de antimicrobianos no mundo não é recente. Em 1977 foi aplicado um questionário diagnosticando o controle da mastite em 23 países, onde entre vários fatores foi avaliada a obrigatoriedade da prescrição veterinária, nível de restrição do uso, existência de regulamentações do governo sobre antibióticos utilizados, diferenciação para embalagens de antibióticos, avaliação da sensibilidade dos patógenos aos produtos, nível de sensibilidade dos testes utilizados, adoção pelas propriedades de testes para detecção de antimicrobianos, existência de imposição de penalidades para resíduos e percentual de tratamento de vacas secas (INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION, 1980).

A incidência de resíduos no leite acarreta problemas no nível de saúde pública, de tecnologia, no controle de qualidade e sobre o meio ambiente.

Na área de saúde pública os riscos são relacionados aos aspectos toxicológicos, microbiológicos e imunopatológicos. Os aspectos toxicológicos referem-se às ações carcinogênicas ou mutagênicas que causam dano irreversível ao DNA celular. Os aspectos microbiológicos estão relacionados a ação desses resíduos sobre os microrganismos do ambiente e da flora intestinal, aumentando o número de bactérias resistentes. Quanto aos aspectos imunopatológicos, estão as reações de hipersensibilidade aos antibióticos, com ênfase especial à penicilina em consumidores sensíveis que podem desenvolver quadro alérgico (AURVALE, 1981; GELLI; JAKABI; SOUZA, 1984; BRITO; DIAS, 1998; BRITO, 2000).

Os processos tecnológicos dos produtos lácteos apresentam consideráveis prejuízos por pequenas quantidades de resíduos antimicrobianos, como problemas na coagulação do leite e maturação inadequada de queijos com alterações na textura, acidificação e odores desfavoráveis na manteiga e creme, bem como

inibição das culturas lácticas na produção de iogurte e demais derivados fermentados. As perdas na produção dos derivados lácteos têm acarretado consideráveis prejuízos econômicos (GALLINA et al., 1998; BRITO, 2000). Dos derivados do leite o iogurte é o produto mais atingido, devido a redução na capacidade de acidificação (FAGUNDES, 1997).

VEISSEYRE (1988), relata que em um rebanho de cem vacas, quando um animal produz leite contaminado com resíduos de antibióticos, podem ocorrer problemas na fabricação de queijos, onde o aumento da contaminação em 10% dos animais torna a produção inviável.

CARRARO (1999) observou na fabricação do queijo minas frescal, após 24 e 48 horas da aplicação de antimicrobianos com leite contendo resíduos, que os mesmos não apresentaram atraso no tempo de coagulação, nem na aparência, aumentando a possibilidade de um consumo normal desses produtos com resíduos.

Em relação ao controle de qualidade da matéria-prima, a presença de resíduos de antibióticos no leite pode interferir nas análises enzimáticas. Um exemplo disto é a prova da redutase, em que resíduos aumentam o tempo de redução do corante azul de metileno, por criar condições adversas a flora de contaminação, mascarando a qualidade dos produtos (FAGUNDES, 1997; SOUZA, 1998; BRITO, 2000).

O leite pode tornar-se um grave poluente ambiental no seu descarte, pois sua demanda bioquímica de oxigênio - DBO é de 30.000 mg/L, superior à DBO de outros poluentes, como de esgoto (300 mg/L), efluente de laticínios (3200 mg/L) e efluente de suínos (11500 mg/L). Soluções para o descarte de pequenas e grandes quantidades de leite devem ser organizadas. Em grandes volumes, geralmente contidos em caminhões tanques e tanques industriais de estocagem, as opções de descarte podem ser: 1) processamento para uso na alimentação animal; 2) aplicação direta no solo; 3) lagoas de sedimentação em propriedades rurais/depósitos orgânicos/valas e 4) estação municipal de tratamento de dejetos (ALVIM; BRANDÃO, 2001).

Um aspecto relevante a considerar é a termo-resistência dos diversos antimicrobianos, que é variável, onde estudos observaram resíduos de antimicrobianos em leite pasteurizado, esterilizado, ou mesmo leite em pó. Além disso, faltam estudos sobre o destino e a toxicidade dos metabólitos intermediários

decorrentes da degradação pelo calor (AURVALLE, 1981; LUQUET, 1991; FAGUNDES, 1997).

2.5.1 Fatores Envolvidos na Origem dos Resíduos Antimicrobianos no Leite

A concentração de antimicrobianos no leite e a duração do tempo de excreção é influenciada por diversos fatores: via de aplicação, volume de produção de leite, tipo (substâncias ativas, curta ou longa ação na formulação) e dosagem aplicada, intervalo entre o início do tratamento e primeira ordenha, sanidade dos tecidos do úbere e fatores individuais do animal. As concentrações mais elevadas de antimicrobianos no leite ocorrem sempre após administração intramamária (BRITO, 2000; SCHÄELLIBAUM, 2000b).

A contaminação por antibióticos pode ocorrer de duas formas - direta ou indireta. Na direta ou contaminação secretória, o leite das vacas tratadas é adicionado ao restante do leite produzido, geralmente antes do término do período de carência. Na contaminação indireta ou pós-secretória, ocorre o carregamento desses antimicrobianos através do contato de superfícies contaminadas (SCHÄELLIBAUM, 2000b).

Estudo realizado na Suíça, entre 1986 e 1996, demonstrou que a maioria dos casos de contaminação por antibióticos foram por inobservância do período de carência (32,9%), inobservância na sequência de ordenha de vacas tratadas (24,5%) e limpeza insuficiente de equipamentos de ordenha (24,4%), sendo estes dois últimos fatores indiretos (SCHÄELLIBAUM, 2000b).

Período de carência ou tempo de retenção é o período que transcorre entre a última administração de um medicamento e a liberação dos tecidos ou produtos provenientes do animal tratado, o qual assegura que os resíduos de uma droga não ultrapassem o limite máximo permitido para cada substância (FAO, 1993).

Para determinação do período de carência empregam-se testes quantitativos baseados no esgotamento do úbere. Em função dos diversos fatores que influenciam cada produto, as bulas dos preparados comerciais devem indicar claramente o período de carência. Antimicrobianos que não trazem esta informação não devem ser utilizados em vacas lactantes (BRITO, 2000).

Em relação às formulações para tratamento no período seco das vacas, as quais são sais insolúveis em base de ação prolongada, com liberação no úbere por várias semanas, as concentrações das mesmas devem ser inferiores ao permitido no quarto dia após o parto (BRITO, 2000).

As diferentes vias de administração influenciam a excreção de medicamentos no leite. A via intravenosa, relacionada ao tipo de preparo e dose, libera resíduos no leite entre 12 a 48 horas. Já o período de excreção da via intramuscular pode estender-se entre 6 a 150 horas, enquanto a via intramamária apresenta no geral um período de excreção entre 24 a 48 horas (BRITO, 2000).

SEYMOUR, JONES e MCGILLIARD (1988) avaliaram a persistência de resíduos de antibióticos no leite após o período de carência recomendado em 58 vacas em lactação que foram tratadas com um único tipo de antibiótico, onde 21% das amostras foram positivas para resíduos, após o período recomendado e observaram que foi freqüente o uso de superdoses.

Estudo realizado por McEWEN, BLACK e MEEK (1992) demonstrou a presença de resíduos de antibióticos em amostras coletadas após o período de carência recomendado pelos fabricantes, que foram relacionados ao aumento do número de tratamentos, ao aumento da dose diária e via de administração (Tabelas 1 e 2).

Os resultados do referido estudo indicaram que o uso de antibióticos de acordo com as prescrições da bula diminuíram o risco da ocorrência de resíduos após o período de carência recomendado, sendo observado resíduos em apenas 4,2% dos casos pesquisados (McEWEN, BLACK e MEEK, 1992).

OLIVER, MAKI e DOWLEN (1990) relataram que a ocorrência prolongada de resíduos foi mais comum após o uso de superdosagem, com a administração de antibióticos por múltiplas vias.

Os níveis de antimicrobianos em superdosagem podem ser decorrência do aumento da dose, aumento da freqüência de tratamento, uso em espécies não aprovadas, bem como o uso de via de administração não indicado. Como os períodos de carência são estabelecidos de acordo com as condições indicadas na bula, os mesmos não podem ser considerados nesses casos (McEWEN, BLACK e MEEK, 1992).

TABELA 1 - TIPOS DE USO DE ANTIBIÓTICOS EM VACAS LACTANTES E OCORRÊNCIA DE RESULTADOS POSITIVOS PARA A PRESENÇA DE RESÍDUOS DE ANTIBIÓTICOS EM AMOSTRAS APÓS O PERÍODO DE CARÊNCIA RECOMENDADO PELO FABRICANTE

Tipos de uso	Número de vacas tratadas	Número de testes positivos para resíduos de antibióticos, após o período de carência ^(a)
uso conforme recomendação	70	3
Aumento do número de tratamentos	44	2
aumento da dose diária	18	5
não aprovado para vacas lactantes	2	0
aumentada a dose diária e alterada a via de administração ^(b)	2	2 ^(c)
outras combinações dos itens acima	2	1
total	138	13

FONTE: McEwen, S.A.; BLACK, W.D.; MEEK, A.H. Antibiotic residues (bacterial anhibitory in the milk of cows treated under label and extra-label conditions. Canadian Veterinary Journal, 1992.

(a) amostras de leite dos quartos positivas no br-test e disc assay.

(b) antibiótico administrado subcutaneamente quando a recomendação era de uso específico por via intramuscular (im).

(c) proporção de resultados positivos para a via subcutânea (SC) significativamente maior.

(p < 0.05 na análise de variância e no teste de Duncan).

TABELA 2 - VIAS DE ADMINISTRAÇÃO DE ANTIBIÓTICOS PARA VACAS EM LACTAÇÃO E FREQUÊNCIA DA OCORRÊNCIA DE RESULTADOS POSITIVOS PARA RESÍDUOS DE ANTIBIÓTICOS EM AMOSTRAS DE LEITE COLETADAS APÓS O PERÍODO DE CARÊNCIA RECOMENDADO PELO FABRICANTE

Vias de Administração	Número de Vacas tratadas	Número de testes positivos para resíduos de antibióticos em amostras testadas após o tempo de carência recomendado	Risco %
Intramamária	103	4	3.9
Intramamária e Intramuscular	10	1	10.0
Intramamária e Endovenosa	2	0	0
Intramuscular	21	6	28.6
Subcutânea	2	2 ^(a)	100.0
Total	138	13	

FONTE: McEwen, S.A.; BLACK, W.D.; MEEK, A.H. Antibiotic residues (bacterial anhibitory in the milk of cows treated under label and extra-label conditions. Canadian Veterinary Journal, 1992.

(a) Proporção de teste-positivos para resíduos de antibióticos para na via de administração subcutânea (SC), significativamente maior.

(p<0,05 na análise de variância e no teste de Duncan).

Levantamento realizado entre 1994 e 1995 pelo Departamento de Agricultura de Michigan em propriedades que apresentaram problemas com resíduos de antibióticos constatou que, o tamanho de rebanho não foi um fator de risco para ocorrência de violação por resíduos de antibióticos no leite. O tratamento de mastite (65%) e o tratamento de vacas secas (25%) foram responsáveis por 90% dos casos de violação, e a superdosagem no uso dos produtos foi responsável em

75% dos 183 casos pesquisados. Entre as causas comuns identificadas nos produtores pesquisados 40% foram problemas de identificação de vacas tratadas, 23% relacionados ao período de carência incorreto e em 19% não houve separação de tratadas e não-tratadas (ERSKINE, 2000).

Segundo SAVILLE, WITTUM e SMITH (2000) resíduos de antibióticos podem ocorrer quando o produtor não está ciente ou não observa o período de carência, quando os animais não são identificados ou não há registro correto do tratamento, ou quando a dosagem está acima das recomendações do fabricante, resultando em maior período de eliminação pelo animal. Outros fatores que podem estar relacionados com resíduos de antibióticos no leite incluem a contaminação do equipamento de ordenha, tratamento de vacas em lactação com produtos para vacas secas, aquisição de vacas tratadas, curto período seco e descarte do leite apenas do quarto em tratamento.

CARRARO (1999) verificou, em Curitiba-PR, a passagem de antibióticos no leite provenientes de um quarto mamário para outro, demonstrando que o leite retirado de animais em tratamento deve ser descartado integralmente.

Pesquisa realizada pela Universidade de Wisconsin com leites tipo A e B, analisados entre 1995 e 1998, pesquisou a associação de violações por resíduos de antibióticos com elevadas CCS no tanque. Os valores de CCS foram significativamente altos para amostras com resultados positivos para resíduos de antibióticos (NMC, 1999).

SARGEANT, SCHUKKEN e LESLIE (1998), avaliando o programa de penalidade sobre CCS em Ontário, entre 1987 a 1994, observaram maior incidência de violações por resíduos em propriedades com contagens acima de 300.000 cél./mL, visando a redução das CCS.

Resultados de estudo nos EUA sugerem que a probabilidade de resíduos antimicrobianos serem encontrados em tanques de propriedades torna-se maior a medida que aumenta a CCS para rebanho/ano (SAVILLE; WITTUM; SMITH, 2000).

Um ponto importante para diminuir os fatores de risco relacionados a ocorrência de resíduos antimicrobianos é a utilização de registros dos tratamentos de mastites nas práticas veterinárias, que sirvam como fonte de orientação para o manejo e saúde do rebanho (FAO, 1993; RHODA, 2000; FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2001).

A decisão do uso de medicamentos acima da dose recomendada pelo fabricante deve ser responsabilidade do médico veterinário, o qual deve possuir conhecimento suficiente sobre o animal, realizar visitas rotineiras, estabelecendo-se assim uma relação veterinário/cliente/paciente (RHODA, 2000; FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2001).

2.5.2 Avaliação dos Riscos Toxicológicos

A avaliação dos riscos toxicológicos por resíduos de medicamentos em alimentos segue os princípios da Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação e Organização Mundial da Saúde - FAO/OMS, definidos pela Comissão do *Codex Alimentarius* - Joint/FAO/WHO *Food Standards Programme* e Comitê do *Codex Alimentarius* sobre Resíduos de Medicamentos Veterinários em Alimentos - CCRVDF (MITCHELL et al., 1998; FAO/OMS, 1999).

O risco toxicológico é avaliado determinando-se primeiramente o Nível sem Efeitos Observados - NOEL, que é a dose de uma substância que não causa nenhum efeito adverso. A dose segura é estabelecida como a Ingestão Diária Aceitável - IDA, dividindo-se o NOEL por um fator de segurança, que pode ser por exemplo 100 ou 1000, dependendo da relação dose-resposta. A IDA representa a quantidade de uma substância, em mg por kg de peso corpóreo (mg/kg), que pode ser ingerida diariamente, durante a vida toda, sem produzir risco apreciável à saúde. Esses dados têm validade para os fatos conhecidos no momento da avaliação (FAO, 1993; CÂNDIDO; CAMPOS, 1995; MITCHELL et al., 1998).

A partir dos estudos de cada droga é determinado o seu Limite Máximo de Resíduo Permitido - LMR, que é a concentração máxima admissível de resíduos de medicamentos veterinários nos alimentos, podendo ser expresso em partes por milhão (mg/kg ou mL/L) ou partes por bilhão (ug/kg ou ug/L) do alimento (FAO, 1993; MITCHELL et al., 1998; BRITO, 2000).

Em função do risco de desenvolvimento de resistência humana aos antimicrobianos, PALERMO NETO (2001) demonstrou o interesse do *Codex Alimentarius* em tratar de forma diferenciada a tolerância aos antimicrobianos, através da definição de uma nova fórmula para o cálculo da IDA, definida como “ a maior quantidade de resíduos de um antimicrobiano que pode ser encontrada no trato

gastrointestinal - TGI, sem que se observe uma pressão de seleção sobre as bactérias da microflora”. Assim pode-se chegar a dois valores de IDA, um calculado por métodos toxicológicos e outro por microbiológicos.

Para obtenção de cálculo uniforme dos LMRs na adoção dos volumes de alimentos da ingesta diária é considerado 1,5 litros de leite, valor aparentemente muito alto em relação aos outros alimentos, como 300 g para músculo e 100 g para fígado. Este valor visa garantir que crianças não consumam resíduos de medicamentos veterinários em quantidades superiores às IDAs estabelecidas (CODEX ALIMENTARIUS, 1999; SCHWARZ; CHASLUS-DANCLA, 2001).

No Brasil, as legislações que regulam o uso de medicamentos veterinários são de responsabilidade do Ministério da Agricultura e do Abastecimento - MAA, o qual regulamenta o registro e fiscalização destes produtos e dos estabelecimentos relacionados.

A competência em estabelecer os limites máximos de resíduos de medicamentos veterinários em alimentos é do Ministério da Saúde - MS, através da Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Esses limites não foram definidos até o momento pelo setor saúde, sendo utilizados os LMRs previstos na Instrução Normativa/MAA nº 42 de 20/12/1999 e Regulamento Técnico do MERCOSUL – Resolução GMC n. 54/2000 (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2001).

A Instrução Normativa/MAA nº 42, através do Plano Nacional de Controle de Resíduos - PNCR orienta os programas setoriais, que são os subprogramas de monitoramento, de investigação, exploratório, e controle de produtos importados. Aborda os LMRs, que devem seguir as recomendações do *Codex Alimentarius*, as Diretivas da União Européia - UE e os utilizados pelo *Food and Drug Administration* - FDA/USA. Também determina os métodos analíticos para alguns antimicrobianos (BRASIL, 1999b).

A legislação da UE diz respeito aos LMRs. O FDA estabelece níveis de segurança / tolerância. Na UE as drogas veterinárias permitidas obtiveram os LMRs no final de 1998, entretanto ainda existem antimicrobianos em uso sem limites estabelecidos (INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION, 1997).

O Quadro 1 apresenta uma revisão dos LMRs estabelecidos nas diversas legislações.

QUADRO 1 - LIMITES MÁXIMOS RESIDUAIS (LMRs µg/kg) E SEGURANÇA / TOLERÂNCIA (µg/kg)
PARA ANTIMICROBIANOS EM LEITE FIXADOS NAS DIFERENTES
REGULAMENTAÇÕES – SITUAÇÃO EM 2001

continua

ANTIMICROBIANOS	LMRs Codex	LMRs UE	LMRs MERCOSUL	LMRs Brasil	Segurança / tolerância FDA ⁽¹⁾
Penicilinas					
Benzilpenicilina	4	4	4	4	5/0
ampicilina		4		4	10/10
amoxicilina		4		4	10/10
oxacilina		30			
cloxacilina		30			10/10
dicloxacilina		30			
penetamato		4			
Cefalosporinas					
ceftiofur	100	100*		100	50 ^(a) /1000 ^(b)
cefapirina					20/20
cefquinona		20			
cefalozina		50			
Tetraciclina					
tetraciclina	100	100	100	100	80/0
oxitetraciclina	100	100	100	100	30/0
clortetraciclina		100	100	100	30/0
Macrolídeos					
(neo) espiramicina		200			
tilosina		50			50/50
eritromicina	40	40	40	40	50/0
tilmicosina	50	50			
Aminoglicosídeos					
espectomicina	200	200			30/0
estreptomicina	200	200	200	200	
di-hidro-estreptomicina	200	200	200		125/0
gentamicina	200	100			30/0
neomicina + frameticina	500	500	500	500	150/150
Quinolonas					
marbofloxacin		75			
enrofloxacin		100			
Polimixinas					
colistina		50			
Anfamicinas c/ anel naftalênico					
rifaximina		60			
Sulfonamidas	100	100 ^(c)		100 ^(c)	
sulfamidina	25				10/0
sulfametoxazol					10/0
sulfamerazina					10/0
sulfatiazol			100	NE	10/0
sulfadiazina					10/0
sulfametazina			100		
sulfadimetoxina			100		
sulfaquinoxalina			100		
Derivados Diaminopiridenos					
trimetoprim		50			
baquiloprim		30			
Nitrofuranos		0	0		
grupo (furazolidona)	0	0		0	0

QUADRO 1 - LIMITES MÁXIMOS RESIDUAIS (LMRs µg/kg) E SEGURANÇA / TOLERÂNCIA (µg/kg) PARA ANTIMICROBIANOS EM LEITE FIXADOS NAS DIFERENTES REGULAMENTAÇÕES – SITUAÇÃO EM 2001

ANTIMICROBIANOS	LMRs Codex	LMRs UE	LMRs MERCOSUL	LMRs Brasil	conclusão
					Segurança / tolerância FDA ⁽¹⁾
Nitroimidazoles					
rodinazole		0			
dimetridazole		0			
Outros Quimioterápicos					
dapsona		0			
cloranfenicol	0	0	0	0/0	0
novobiocina				100/100	
tianfenicol		50			

FONTES: INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION (1997), BRASIL (1999b), FRANÇA. COMUNIDADES EUROPEAS (1999), FAO/WHO (2000), MERCOSUL. GRUPO MERCADO COMUM (2000), FAO/WHO (2001)

(1) Situação em 01/12/96

* LMR's preliminares

(a) total da droga

(b) total da droga e metabólitos

(c) somatório de todas as sulfonamidas

NE – não estabelecido

A AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (2001) criou um grupo de trabalho sobre Resíduos de Medicamentos Veterinários em Alimentos, no qual participam o MAA, universidades e segmentos do setor produtivo e dos estados, visando subsidiar os estudos de avaliação de risco à saúde humana decorrente do uso de medicamentos veterinários em animais produtores de alimentos, propor o estabelecimento dos LMRs a serem adotados no Brasil, além de um programa de controle para alimentos no comércio.

Até o presente momento o MAA não está realizando as análises de violações por resíduos antimicrobianos no leite, estando em fase de cadastramento das indústrias (PIO, 2001).

2.5.3 Pesquisas sobre Resíduos Antimicrobianos no Brasil

No Brasil, desde os anos 60 diversos trabalhos têm detectado a presença de resíduos antimicrobianos no leite produzido, e os estudos da última década têm demonstrado a prevalência dos mesmos.

GELLI et al. (1991) pesquisaram a presença de inibidores em 648 amostras de leite no Estado de São Paulo. Destas, 12,7% foram positivas com presença de resíduos em amostras de leite tipo B e C, especial com 3,2% de gordura e tipo magro com 2% de gordura e leite cru. As amostras de leite tipo A foram negativas.

PELAYO et al. (1991) analisaram, em Londrina - PR, 130 amostras de leite. Destas 3,9% apresentaram resíduos antimicrobianos, sendo 5,13% de leite cru e 3,85 do leite pasteurizado no comércio.

MAGALHÃES et al. (1995) avaliaram em Belo Horizonte - MG, 120 amostras de leites tipo A, B, C e Integral/Fazenda. Os resultados revelaram 36,67% de inibidores no leite tipo B, seguido de 20% no leite Integral/Fazenda, 6,67% no leite tipo A, não sendo encontrado resíduos no leite tipo C.

ALBUQUERQUE, MELO e MARTINS (1996) analisaram 209 amostras de leite no comércio, em Fortaleza - CE, das quais 69,7% apresentaram resíduos antimicrobianos.

SOUZA e BENEDET (2000) analisaram 384 amostras de leite do tipo C e do tipo longa vida, em Santa Catarina, das quais 50,52% apresentaram resultado positivo para a presença de antimicrobianos, um total de 44,01% foram suspeitos e 5,46% apresentaram resultado negativo.

2.5.4 Testes para Detecção de Resíduos Antimicrobianos no Leite

Os testes para detecção de resíduos antimicrobianos no leite baseiam-se em diferentes princípios e fornecem resultados qualitativos, quantitativos ou semiquantitativos. Os testes qualitativos classificam a droga em positiva ou negativa, em relação a determinados níveis de concentração. Os testes quantitativos comparam a amostra com uma curva padrão que abrange uma ampla faixa de concentração do princípio ativo analisado, exigindo uma medição precisa. Os testes semiquantitativos fornecem resultados em relação ao intervalo de concentração da droga, podendo ser interpretados como negativo, relativamente positivo ou altamente positivo, frente a controles realizados com as amostras (MITCHELL et al., 1998, BRITO, 2000).

A maioria dos testes disponíveis no mercado servem para triagem (testes de *screening* ou rastreamento), podendo ser qualitativos ou semiquantitativos. O

objetivo dessa triagem é verificar se há ausência de resíduos na amostra testada. Portanto os limites de detecção devem ser inferiores ao limite máximo de resíduo estabelecido para cada antimicrobiano (MAGALLHÃES et al., 1995; BRITO, 2000).

Nos testes baseados na inibição do crescimento bacteriano um microrganismo sensível é colocado em contato com a amostra, adicionando-se nutrientes. Após um período de incubação, observa-se a ausência de crescimento bacteriano se a amostra apresentar resíduos. Quando há ausência de resíduos ocorre o crescimento da bactéria, observando-se produção de ácido, redução de corantes ou formação de uma camada visível de crescimento na superfície do ágar (CARRARO; VEIGA, 2000; BRITO, 2000).

Muitos países têm adotado oficialmente o método de difusão em ágar utilizando discos de papel de filtro impregnados com as amostras de leite. A bactéria *Bacillus stearothermophilus* tem sido utilizada, apresentando alta sensibilidade à penicilina G: 0,006 UI/mL (CARRARO; VEIGA, 2000; BRITO, 2000).

Segundo MITCHELL et al. (1998), as principais vantagens dos ensaios de inibição microbiana são: baixo custo, facilidade de execução e o número grande de amostras que podem ser analisadas. O autor cita como desvantagens o período de incubação alto e a possibilidade dos falso-positivos pela presença de inibidores naturais do leite cru.

Vários estudos têm confirmado que os resultados falso-positivos nos testes de triagem são mais comuns em amostras de leite individuais de vacas, e menos freqüentes em amostras de tanque. Essas reações são decorrentes da alta CCS ou pela presença de inibidores naturais, muitas vezes por um período pós parto prolongado. Esses inibidores podem ser inativados ou destruídos por aquecimento (SISCHO, 1993; CULLOR et al., 1994; CULLOR, 1995; FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 1997; INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION, 1997; HILLERTON et al., 1998; WEIMER, 2000).

HILLERTON et al. (1998), em estudo de detecção de substâncias antimicrobianas, utilizando o teste de inibição microbiana - DELVOTEST em amostras de leite individuais, retestou as amostras com resultados positivos para resíduos antimicrobianos, após tratamento de 82° C por 5 minutos. Este procedimento visou confirmar ou descartar os resultados falso-positivos, devido a presença de inibidores naturais em amostras que continham substâncias inibidoras.

WEIMER (2000) recomenda que para evitar falso-positivos os testes devem seguir exatamente as recomendações do fabricante e a utilização de testes desenvolvidos para análise de tanque deve ser realizada com cautela pelos produtores para análise de leite individual.

Foi verificado o efeito de diversos detergentes e sanitizantes na performance de dois testes de inibição microbiana, o TTC (cloreto de 2,3,5, trifenil-tetrazólio) e o Delvotest. Os resultados demonstraram que os níveis de detergentes e desinfetantes foram detectados, devido ao prejuízo na qualidade organoléptica do leite, em concentrações bem menores que as necessárias para interferência nos testes de inibição microbiana (MERIN; ROSENTHAL, 1985).

Foram desenvolvidos testes mais rápidos, entre os quais estão os testes imunológicos que se baseiam na reação do antígeno, que é o antimicrobiano, com o anticorpo específico. Anticorpos específicos ou monoclonais se ligam ao resíduo antimicrobiano presente na amostra. Os métodos de análise empregados utilizam enzimas ou substâncias radioativas na técnica denominada por Ensaio Imunoenzimático - ELISA (MITCHELL et al., 1998; BRITO, 2000).

Outro grupo de testes se baseiam no reconhecimento dos antimicrobianos pela ligação com receptores. Os receptores são adicionados à amostra com um antimicrobiano marcado da classe testada. Quando a amostra contém resíduos estes se ligarão aos receptores, sendo que o número de sítios ocupados pela droga não marcada será proporcional à concentração dos antimicrobianos da amostra. Também é utilizada substância radioativa ou enzima (MITCHELL et al., 1998; BRITO, 2000).

Existem métodos mais sofisticados que identificam e quantificam os antibióticos, através da utilização de equipamentos sofisticados como cromatógrafo gasoso, em camada fina ou líquida de alto desempenho (HPLC), eletroforese e bio-radiografia. Além destes, outros métodos enzimáticos e microbiológicos com utilização de receptores ou anticorpos são úteis também na confirmação de resíduos antimicrobianos (BRITO, 2000).

Os testes de *screening* utilizados podem ser os testes inibidores com: *Bacillus stearothermophilus*, *Streptococcus thermophilus*, *Bacillus subtilis* ou *Sarcinea lutea* e testes inibidores do iogurte. Os métodos de confirmação podem ser

por testes enzimáticos, imunoensaios, ensaios de receptores microbianos, eletroforese com alta voltagem, HPLC, entre outros (SCHÄELLIBAUM, 2000b).

O quadro 2 apresenta exemplos de métodos para detecção e confirmação de resíduos de antibióticos no leite.

QUADRO 02 - EXEMPLOS DE TESTES PARA DETECÇÃO DE RESÍDUOS DE ANTIMICROBIANOS DISPONÍVEIS NO MERCADO, SEGUNDO MÉTODO DE DETECÇÃO - 1998

Método de detecção	Testes
Inibição de Crescimento Microbiano	Delvotest - P Delvotest S - P Brilliant Black Reduction Test (Br - Test) Calf Antibiotic Sulfa Test (Cast Test) Disk Assay for Milk (Teste Do Disco) Live Animal Swab Test (Last Test) Charm Farm Test
Receptor Microbiano	Charm I Test Charm II Test
Colorimetria Enzimática	Penzyme Test IDEXX SNAP Test
Receptor de Ligação	SNAP β -lactâmicos SNAP tetraciclina Delvo - X - Press Test
Imunoensaio	Cite Probe (tetraciclina, gentamicina) Cite Sulfa Trio EZ - Screen Quik Card Lactek (β -lactâmicos, gentamicina, sulfametazina)
Análise Cromatográfica	HPLC - Cromatografia Fase Líquida de Alta Performance GC - Cromatografia Gasosa TLC - Cromatografia em Camada Delgada (somente screening ou análise qualitativa)

FONTE: MITCHELL et al. (1998)

O FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (1997) afirma que não existe um teste de rastreamento ideal para a avaliação de resíduos de drogas antimicrobianas no leite. Nenhum dos testes para β -lactâmicos detecta todas as drogas β -lactâmicas. Alguns apresentam níveis de sensibilidade de 90 a 95% para drogas específicas abaixo do nível de segurança / tolerância e todos podem dar resultados falso-positivos.

Em função dos β -lactâmicos serem os antibióticos de maior uso, os testes para detecção de resíduos múltiplos são desenvolvidos para serem sensíveis em pelo menos quatro drogas β -lactâmicas das seis exigidas pelo *Codex Alimentarius*, que são: penicilina, amoxicilina, ampicilina, ceftiofur, cefapirina e cloxacilina, em seus níveis de segurança/tolerância. Observa-se que os testes existentes detectam uma ou mais drogas em níveis abaixo de sua tolerância, e cada teste falha ao detectar uma ou mais drogas desse grupo em seu nível de tolerância (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 1997). OLIVEIRA e CARNEIRO (2000) propõem que cinco dos seis antibióticos sejam detectados, para redução dos riscos de ocorrência de resíduos, ou seja, detecção de 80% das seis drogas β -lactâmicas exigidas.

REYBROECK (1995) analisou a performance de 13 testes para detecção de resíduos antimicrobianos em amostras de leite de vacas suspeitas e de tanque. Os testes utilizando *Bacillus stearothermophilus* var. *calidolacts* indicaram mais amostras positivas em relação aos testes com *Streptococcus salivarius* spp. *thermophilus*. O autor analisa que a sensibilidade dos testes de inibição microbiana para cada droga depende do tipo de microrganismo utilizado e também do conceito do teste.

Em relação à sensibilidade dos testes é importante dar atenção especial ao ceftiofur, que é uma cefalosporina amplamente utilizada nos EUA e com uma tendência de crescimento emergente no Brasil. Este antibiótico tem sua aplicação estimada em 20%, em nosso país, pelo fato de proporcionar isenção de resíduos no prazo de 12 horas (OLIVEIRA; CARNEIRO, 2000).

Estudo realizado para se determinar os efeitos do ceftiofur, após administração intramuscular do Excenel em vacas lactantes, demonstrou que as amostras coletadas 24 horas após o último tratamento das vacas não apresentaram resíduos, e as amostras coletadas após 12 horas foram positivas no Delvo X Press BL e no Charm HVS-8100 β -lactam (REYBROECK, 1997).

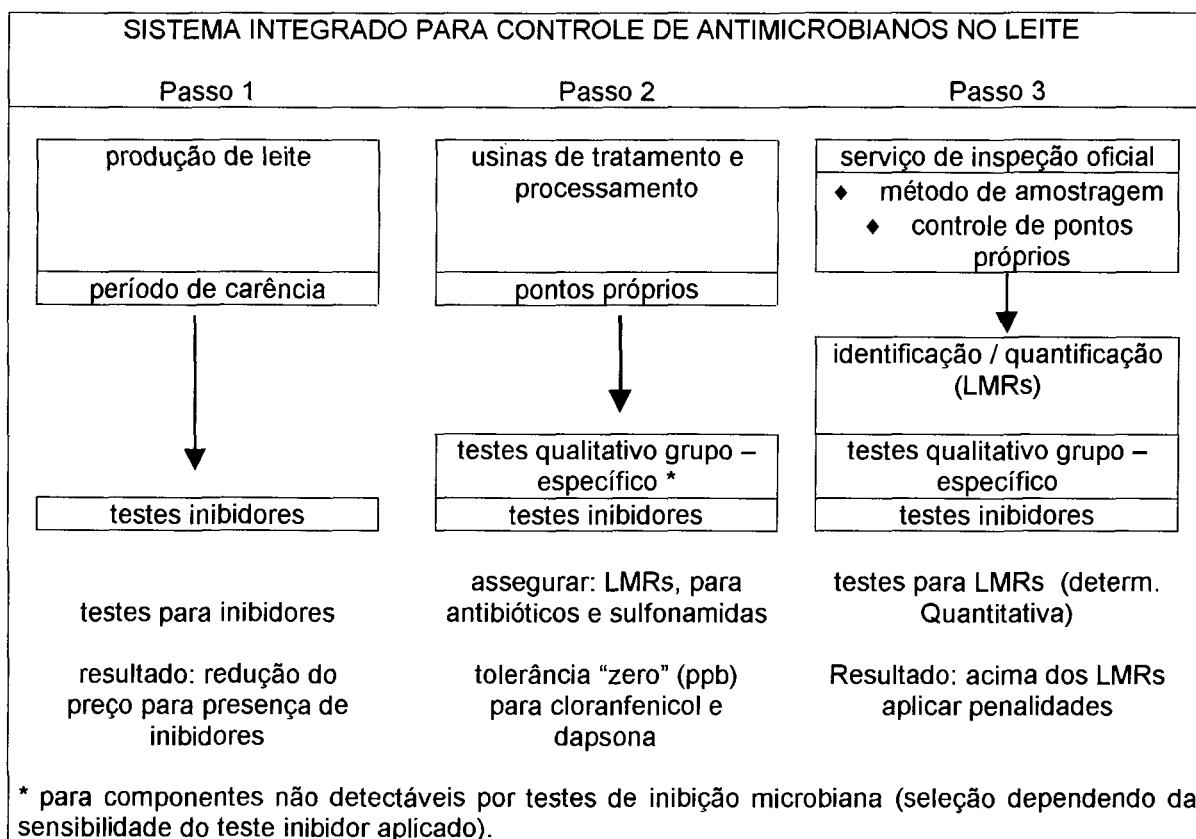
CARRARO e VEIGA (2000), compararam três testes comerciais: ADM, DELVOTEST P/SP, ambos métodos baseados no princípio de inibição microbiana e SNAP, com base no princípio enzimático, permanecendo o último como referência. O DELVOTEST P/SP apresentou resultados diferentes em 46,9%, enquanto o ADM 12,5% em relação ao teste enzimático. Os autores detectaram falhas nas informações referentes aos produtos, o que dificulta a aplicação prática dos testes.

Apesar de todas as limitações dos testes de rastreamento citados, sua implantação leva produtores a reduzirem as violações de leite por resíduos de antibióticos (MAGALHÃES et al., 1996; ANDREW et al., 1997; FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 1997; SCHÄELLIBAUM, 2000b).

A combinação de vários testes em um sistema, no qual diferentes métodos podem ser aplicados, considerando-se os objetivos, é chamado de um “sistema integrado”, no qual são determinadas as responsabilidades de todas as partes envolvidas, apresentado na figura 1 (HEESCHEN, 1996; INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION, 1997).

A elaboração de um sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle - APPCC, voltado para produção de leite deve considerar entre os pontos críticos de controle a realização de testes para detecção de resíduos de antibióticos (SAKATE et al., 1999; OLIVEIRA; CARNEIRO, 2000).

FIGURA 1 - SISTEMA INTEGRADO PARA CONTROLE DE ANTIMICROBIANOS NO LEITE



FONTES: HEESCHEN (1996), INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION (1997)

2.6 IMPACTO NA SAÚDE PÚBLICA POR RESÍDUOS ANTIMICROBIANOS NO LEITE

A presença de resíduos antimicrobianos no leite e sua importância para a saúde pública só receberam maior atenção a partir da década de 60, principalmente diante do desenvolvimento de reações alérgicas em consumidores (GALLINA et al., 1998).

Atualmente analisa-se o impacto na saúde pública por resíduos nos aspectos imunopatológicos, toxicológicos e microbiológicos.

2.6.1 Aspectos Imunopatológicos

As reações alérgicas causadas pelo consumo de antibióticos contendo resíduos de penicilina foram os primeiros agravos considerados para a inclusão dos resíduos de antibióticos como fatores de risco à saúde pública.

Porém todos antibióticos podem provocar reações de hipersensibilidade, dependendo do indivíduo e da droga utilizada (TAVARES, 1996).

Estas reações de hipersensibilidade são fenômenos imunológicos que causam sensibilização em indivíduos suscetíveis, após exposição. Quando ocorre a nova exposição o processo alérgico se manifesta, podendo ocorrer reações de pele, como urticárias e dermatites ou processos em nível respiratório, como rinite ou asma brônquica (FAGUNDES, 1997; BRITO, 2000).

Estes processos alérgicos podem ser decorrentes de sensibilização por fungos produtores de drogas presentes no meio ambiente, como exemplo, a inalação do *Penicillium* (TAVARES, 1996). Também os antibióticos presentes no leite contaminado por penicilina, seus metabólitos ou produtos de degradação, podem ser os responsáveis pela sensibilização anterior (BOOTH; McDONALD, 1992).

Um agravante nesses processos é a possibilidade da ocorrência de reações alérgicas cruzadas entre antibióticos do mesmo grupo. Para exemplificar, um paciente alérgico à penicilina G provavelmente apresentará sensibilidade à ampicilina e outras penicilinas. Penicilinas e cefalosporinas também podem desenvolver hipersensibilidade cruzada em 5 a 10% das pessoas. Porém, é

possível que pacientes alérgicos às penicilinas semi-sintéticas não apresentem estas reações à penicilina G, devido aos determinantes antigênicos próprios nas diferentes penicilinas. Isto explica o fato de não haver necessariamente a existência de hipersensibilidade cruzada entre os diversos antibióticos β -lactâmicos (SAXON¹, *apud* TAVARES, 1996).

Foi demonstrado que quantidades muito pequenas, de 3 a 9 ppb de penicilina foram capazes de causar essas reações (FAGUNDES, 1997; BRITO, 2000).

Pesquisas comprovam que a penicilina é o grupo de maior relevância para hipersensibilização, embora tenham sido relatados em menor grau reações por estreptomicina, neomicina e tetraciclina (AURVALLE, 1981; FAGUNDES, 1997; WEAVER, 1992; GALLINA et al., 1998). Sulfonamidas e nitrofuranos também podem causar reações alérgicas (WEAVER, 1992; BRITO, 2000).

Apesar das reações alérgicas atingirem um percentual abaixo de 5% da população os β -lactâmicos são os antibióticos de maior uso em medicina veterinária, aumentando os riscos pela frequência de exposição às penicilinas (FONSECA; SANTOS, 2000; OLIVEIRA; CARNEIRO, 2000).

2.6.2 Aspectos Toxicológicos

Os aspectos toxicológicos dos resíduos antimicrobianos no leite de maior gravidade à saúde humana relacionam-se aos efeitos mutagênicos, carcinogênicos e teratogênicos.

A mutagenicidade é a capacidade do agente químico alterar o material genético do núcleo celular, podendo esse dano ser transmitido durante a divisão celular. A carcinogenicidade é a propriedade da indução a formação de tumores, pelo dano irreversível ao DNA celular. A teratogenicidade é a capacidade dos agentes causarem defeitos no desenvolvimento fetal da concepção ao nascimento. Os agentes químicos podem apresentar estes efeitos simultaneamente (FERNÍCOLA; JAUGE, 1985).

¹SAXON et al. Immediate hypersensitivity reactions to beta-lactam. G.E. Approaches to summarizing somatic cell count which improve interpretability. Ann Int Med 107 (2): 204-15, 1987.

Deve-se considerar que os resíduos encontrados nos alimentos dos animais tratados ou expostos variam em relação aos compostos administrados, em função da absorção, da distribuição, do metabolismo e da excreção dos produtos. A toxicidade dos diversos produtos do metabolismo podem ser diferentes, sendo importante as informações sobre a natureza química, concentração e eliminação dos componentes do resíduo global. Ressalta-se que os produtos de eliminação lenta têm tendência a acumular-se, aumentando este risco (DUBOIS, 1993).

Por motivos éticos e econômicos as provas toxicológicas completas se limitam ao composto originário, não se avaliando a toxicidade dos compostos derivados. Esse escasso conhecimento decorre da suposição de que o composto original e o conjunto de seus metabólitos são responsáveis pela soma dos efeitos tóxicos observados e que a toxicidade de cada metabólito é similar ao composto original (CODEX ALIMENTARIUS, 1999).

DUBOIS (1993) ressalta que a falta de informações referente à análise de toxicidade dos resíduos deve-se provavelmente a três razões: devido ao custo e demora dos estudos de ingestão; em função dos programas nacionais de controle serem concebidos para detecção das práticas ilícitas e não para fornecerem dados sobre os resíduos ingeridos; e os métodos analíticos para estimativas precisas das concentrações residuais, inclusive para valores abaixo dos limites máximos permitidos serem muitas vezes inexistentes.

Nitrofuranos, cloranfenicol e sulfametazina são exemplos da importância de estudos de avaliação dos níveis de resíduos aceitáveis no leite. Os nitrofuranos geralmente são tóxicos para o material genético da célula, mutagênicos e carcinogênicos (BRITO, 2000; SCHWARZ; CHASLUS-DANCLA, 2001). O cloranfenicol apresentou efeitos adversos sobre a medula óssea de animais de experimentação. Supõe-se que a ação dos metabólitos do cloranfenicol sobre o DNA celular resulte em anemia aplástica em indivíduos suscetíveis, em torno de 1/40.000 da população. Em relação à sulfametazina, uma pesquisa realizada nos EUA demonstrou o aparecimento de adenomas de células foliculares na glândula tireóide de ratos e camundongos que receberam doses moderadas a elevadas de sulfametazina de 18 a 24 meses (WEAVER, 1992; BRITO, 2000).

O efeito causador de anemia aplástica do cloranfenicol não se relaciona à dose, o que aumenta mais este risco. O seu uso é proibido pelo FDA em animais produtores de alimentos (BOOTH; McDONALD, 1992).

A portaria n.º 448 do MAA proíbe a fabricação, importação, comercialização e o emprego de preparações farmacêuticas de uso veterinário de rações e de aditivos alimentares com uso de cloranfenicol, furazolidona e nitrofurazona para animais, cujos produtos sejam destinados à alimentação humana (BRASIL, 1998).

2.6.3 Aspectos Microbiológicos

Desde a introdução a pouco mais de meio século dos antimicrobianos em medicina humana e medicina veterinária, com considerável abuso no seu uso, o desenvolvimento de resistência bacteriana tem se tornado um problema crescente em todo o mundo, em razão da pressão seletiva imposta sobre as populações bacterianas. Mecanismos de resistência têm sido identificados e descritos para todos os antimicrobianos de uso clínico rotineiro (MENDONÇA, 1997; WHITE, 1999; LATHERS, 2001; MARTEL et al., 2001).

A microflora do trato gastrointestinal - TGI humano representa uma importante barreira para a colonização de bactérias patogênicas, como as *Salmonellas spp* e *Escherichia coli*. O uso de antimicrobianos pode afetar esta microflora, tornando o TGI humano suscetível aos patógenos. Pode ocorrer também uma pressão de seleção sobre a microflora "indígena" do TGI, aumentando o potencial para a ocorrência de resistência aos antimicrobianos (PALERMO NETO, 2001; SCHWARZ; CHASLUS-DANCLA, 2001).

Essa pressão seletiva pode resultar na eliminação da população bacteriana sensível e na emergência da que já era intrinsecamente resistente, como pode também resultar no desenvolvimento de cepas anteriormente sensíveis que adquiram resistência (PALERMO NETO, 2001; SCHWARZ; CHASLUS-DANCLA, 2001).

Existem na atualidade mais de 100 doenças categorizadas como zoonoses, incluindo nestas as salmoneloses, criando-se uma tênue fronteira entre a saúde animal e humana. O uso de superdoses de antibióticos em animais contribui para a

expansão da resistência aos antimicrobianos das bactérias zoonóticas (LATHERS, 2001).

Em seu Relatório Anual sobre Doenças Infecciosas, a OMS (2000) demonstrou a preocupação sobre o crescimento das infecções resistentes no mundo. Citou, entre alguns exemplos, que nos EUA existe um número cada vez menor de antibióticos para combater a salmonelose, e também há a ocorrência de resistência a pelo menos um antibiótico em 70% das bactérias causadoras de pneumonia. Nesse relatório a OMS pede o fim do uso de antibióticos de uso humano em animais destinados ao consumo, e maior atenção dos laboratórios na busca de soluções para infecções.

As drogas de escolha para o tratamento de infecções humanas invasivas por *Salmonella* são fluorquinolonas e cefalosporinas de terceira geração. O aumento da resistência desse microrganismo é resultado do uso de agentes antimicrobianos em animais produtores de alimentos, com transmissão da salmonelose aos humanos, através dos alimentos. A melhora das medidas preventivas, como de sanitização e higiene e implementação de normas para o uso prudente de agentes antimicrobianos em animais, com ênfase às fluorquinolonas, são importantes para minimizar a disseminação da antibiorresistência da *Salmonella* (ANGULO; TAUXE; COHEN, 1999).

Tem ocorrido nos EUA a emergência de infecções hospitalares por *Staphylococcus aureus* metacilino-resistentes - MRSA, com transmissão de pessoa a pessoa, os quais são resistentes a maioria dos antimicrobianos, inclusive à metacilina. Quando a metacilina foi aprovada para uso humano em 1988, seu uso indiscriminado gerou, em torno de 85% de resistência em hospitais, nos anos de 1991 e 1992 (ANGULO; TAUXE; COHEN, 1999).

Dados de investigações de surtos de doenças transmitidas por alimentos pela Secretaria de Saúde do Paraná nos anos de 1998 e 1999, apontam o leite e seus derivados no terceiro grupo de alimentos envolvidos nesses eventos, com 11,6% dos 103 surtos investigados em 1998, e com 9,8% dos 112 casos investigados em 1999. Nesses surtos os agentes causais envolvidos foram *Staphylococcus aureus* tendo oito casos, e *Salmonella sp* com um caso, tornando este grupo de alimento relevante para a saúde pública, em nosso estado (PARANÁ, 2001).

A atividade bacteriostática e bactericida sobre as bactérias é identificada *in vitro*, através da concentração inibitória mínima - CIM e concentração bactericida mínima - CBM, correlacionando-as com as concentrações séricas habitualmente alcançadas *in vivo* pelos antibióticos. A CIM indica a suscetibilidade das bactérias ao uso de antimicrobianos (MENDONÇA, 1997).

Em medicina veterinária os critérios interpretativos produzidos pelas indústrias de medicamentos antimicrobianos, para avaliar a suscetibilidade dos microrganismos, são geralmente determinados sob condições de não padronização, ou seja, sem procedimentos de testes nacionais. Esse problema é demonstrado na avaliação de dois agentes antimicrobianos da mesma classe, com igual potência, produzidos por duas indústrias farmacêuticas, os quais apresentam diferentes CIM nas mesmas condições de diluição (WALKER, 1999).

A informação da resistência bacteriana aos antibióticos está contida no material genético cromossômico ou extracromossômico. Quando presente no material genético, a mutação pode ocorrer espontaneamente. Na segunda situação, os genes de resistência estão presentes em fragmentos de DNA extra cromossomiais, através dos plasmídios. Neste caso a resistência bacteriana pode ocorrer entre as células de uma mesma espécie ou entre espécies diferentes. Os transposons, embora não sejam auto-replicativos de DNA, podem transportar genes de resistência bacteriana (MENDONÇA, 1997; SCHWARZ; CHASLUS-DANCLA, 2001).

A situação de resistência aos antimicrobianos é agravada pela realidade de que muitas forças bacterianas patogênicas têm desenvolvido resistência múltipla, que não estão estruturalmente relacionadas a esses agentes, sendo que poucas drogas veterinárias recentes foram avaliadas antes do final da década. Muitos destes fenótipos de resistência têm sido adquiridos com rapidez alarmante (WHITE, 1999).

Foi avaliada a suscetibilidade de 600 cepas de *Escherichia coli* de bovinos, suínos e aves, isoladas no laboratório da Universidade de Dakota do Norte. Através da análise por antibiogramas as cepas apresentaram resistência bacteriana de 93% para tetraciclina, 77% para ampicilina, 23% para gentamicina, 11% para ceftiofur, 5% para enrofloxacin e 1% para amicacina. Muitas dessas cepas são patogênicas em animais e humanos (WHITE, 1999).

Em 1998 o FDA relatou no documento “Avaliação do Impacto na Saúde Humana dos Efeitos Antimicrobianos das Novas Drogas Usadas em Alimentos de Origem Animal” a necessidade de avaliar a quantidade de bactérias entéricas no trato intestinal de animais, seguidas da exposição à novas drogas e as mudanças do número de bactérias entéricas no trato intestinal de animais, que causam doenças em humanos (THOMPSON, 1999).

As atas de estudos para estabelecer causa-efeito em animais produtores de alimentos e falhas no tratamento de doenças humanas têm sido questionados pelos vários métodos utilizados na coleta de informações. Alguns estudos concentram-se nos dados do uso de atas, enquanto que outros utilizam determinações *in vitro* ou dados obtidos em animais de experimentação ou dados epidemiológicos. Assim, as diferentes origens de dados utilizados nas análises dificultam o consenso entre as diferentes abordagens. Uma melhor definição do grau de contribuição da resistência humana através do uso de antibióticos em animais irá resultar em melhor compreensão dessas diferentes abordagens (LATHERS, 2001).

A Conferência sobre Seguridade nos Alimentos e Determinação dos Riscos pelo Uso de Antibióticos Promotores de Crescimento em Animais, realizada em Washington, no ano de 1999, recomendou o estabelecimento de um sistema nacional de dados para facilitar a tomada de decisões sobre o uso e aprovação regulamentar de antibióticos em animais produtores de alimentos. Foi orientada a criação de uma comissão para supervisionar o desenvolvimento e o uso desses antibióticos (ELSASSER, 1999).

Além dessas recomendações, a Conferência delineou investimentos em práticas e pesquisas que auxiliem na função imune e na resistência a doenças relacionadas aos alimentos de origem animal e em pesquisas sobre novas vacinas e estratégias de engenharia genética, visando aumentar a resistência às doenças (ELSASSER, 1999).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 MATERIAL

3.1.1 Amostras

Foram coletadas amostras de leite *in natura* do *pool* de ordenha, procedentes de propriedades leiteiras, localizadas na Região Metropolitana de Curitiba/PR - RMC e agrupadas pela média diária de produção.

3.1.2 Kit Comercial para Detecção de Resíduos Antimicrobianos

Foi utilizado o kit comercial Charm Farm Test - Vial, o qual detecta antibióticos dos grupos β -lactâmicos, sulfonamidas, assim como gentamicina, oxitetraciclina e tilosina.

3.1.3 Equipamentos para Contagem de Células Somáticas - CCS e Determinação da Composição do Leite

Somacount 500- Contador Eletrônico de Células por Fluorescência - Bentley Instruments (BENTLEY INSTRUMENTS, INC, 1994).

Bentley 2000 Analisador Eletrônico de Leite por Radiação de Infravermelha- Bentley Instruments (BENTLEY INSTRUMENTS, INC, 1994).

Esses equipamentos pertencem ao Laboratório do Programa de Análise de Rebanhos Leiteiros do Paraná - APCBRH.

3.1.4 Instrumento para Pesquisa de Campo

Foi elaborado um questionário para o levantamento das condições de uso de antibióticos em vacas leiteiras nas propriedades produtoras de leite, localizadas na RMC (Apêndice 1).

3.2 MÉTODOS

O trabalho constou de duas etapas: levantamento do uso de antibióticos e quimioterápicos antimicrobianos em propriedades leiteiras e pesquisa de inibidores microbianos e CCS em amostras de leite *in natura* destas propriedades.

3.2.1 Definição da Amostragem

Foi realizada amostragem proporcional, considerando a produção leiteira e o número de produtores de leite, após levantamento junto aos laticínios da RMC.

O dimensionamento da amostra foi realizado pelo Método de Amostragem por Proporções sem Reposição (COCHRAN, 1965), onde num universo (população) de 225 produtores de leite foi dimensionada uma amostra com 90 produtores com nível de significância de 5% e erro de 8,0%.

A pesquisa de campo foi realizada com 80 produtores sendo essa nova amostra abaixo da estimada para o estudo, com significância de 5% e um erro de 8,6%.

Os cálculos estão demonstrados no quadro 3.

3.2.2 Pesquisa de Campo

Foi realizado um levantamento das propriedades leiteiras que fornecem leite para usinas pasteurizadoras da RMC, agrupadas segundo seu volume de produção até 200 L/dia, de 201 a 400 L/dia, 401 a 800 L/dia e acima de 800 L/dia.

A pesquisa foi realizada através de um questionário estruturado que analisou os aspectos relacionados ao uso de antimicrobianos nas propriedades, bem como as práticas adotadas nas rotinas de tratamentos dos animais.

O questionário foi primeiramente aplicado em uma propriedade, de forma piloto, para revisão das falhas, sendo depois aplicado junto às demais propriedades selecionadas.

Os resultados da pesquisa de campo foram organizados através de um banco de dados (Apêndice 2A).

QUADRO 3 – AMOSTRAGEM PELAS PROPORÇÕES

- \Rightarrow Proporção de ocorrência = 50% $\Rightarrow p = 0,5$
 \Rightarrow Proporção de não ocorrência = 50% $\Rightarrow q = 0,5$
 \Rightarrow Grau de confiança = 95% $\Rightarrow Z = 1,96 \Rightarrow$ tabela normal
 \Rightarrow Erro máximo permitido = 10% $\Rightarrow E = 0,08$ (8%)

$$n = \frac{Z^2}{E^2} \cdot p \cdot q$$

$$n = \frac{1,96^2 \times 0,5 \times 0,5}{0,08^2} = 150$$

- N.º de produtores conhecido \Rightarrow correção da amostra com população conhecida:

$$n = \frac{n_0}{1 + \frac{n_0 - 1}{N}}$$

onde: n_0 = amostra estimada
 N = população (universo)

$$n = \frac{150}{1 + \frac{150 - 1}{225}} = \frac{150}{\frac{225 + 149}{225}} = \frac{150}{\frac{374}{225}} = \frac{150}{1,662222} = 90,24 \approx 90$$

Distribuição Proporcional

		estimado	real	erro real
Lapa	$\Rightarrow \frac{106,8}{283,6} \times 90 = 33,9 \approx 34$	34	30	11,8%
São José dos Pinhais	$\Rightarrow \frac{125,3}{283,6} \times 90 = 39,8 \approx 40$	40	35	12,5%
Piraquara	$\Rightarrow \frac{32}{283,6} \times 90 = 10,2 \approx 10$	10	09	10,0%
Demais municípios	$\Rightarrow \frac{19,5}{283,6} \times 90 = 6,2 \approx 06$	06	06	0,0%

Média do Erro 8,6%

$$\text{Erro} = \frac{\text{Real} - \text{Estimado}}{\text{Estimado}}$$

NOTA: PL= produção leiteira

H= número de produtores

$$PL_i = 27.800$$

$$H_i = 79$$

$$PL_s = 13.300$$

$$H_s = 112$$

$$PL_p = 11.000$$

$$H_p = 21$$

$$PL_d = 6.500$$

$$H_d = 13$$

$$PL_{\text{total}} = 58.600$$

$$H_{\text{total}} = 225$$

No período de janeiro a maio de 2001 foram coletadas quatro amostras de leite *in natura*, com intervalos variados, em cada uma das propriedades, sendo a primeira coleta realizada concomitante com o questionário. A amostragem foi realizada nos tanques de resfriamento ou do *pool* de latões após homogeneização suficiente, utilizando-se o mesmo *pool* para a CCS e pesquisa de resíduos. Para pesquisa de antimicrobianos, as amostras foram enviadas resfriadas e após congeladas à -20° C até a realização das análises. Para a CCS, as amostras foram acondicionadas em frascos com o conservante bronopol e mantidas resfriadas entre 5 e 10° C, e analisadas entre o primeiro e no máximo o quinto dia.

Os resultados dessas análises estão organizados em um banco de dados (Apêndice 2B).

3.2.4 Análise para Detecção de Resíduos Antimicrobianos no Leite

As amostras foram analisadas no Laboratório do Programa de Análise de Rebanhos Leiteiros do Paraná, seguindo-se as recomendações do laboratório fabricante do kit comercial Charm Farm Test – VIAL (Anexo).

O teste realizado com este kit é um ensaio biológico que se baseia na inibição de crescimento bacteriano do *Bacillus stearothermophilus* var. *calidolacts*. Este microrganismo detecta concentrações em ppb dos seguintes antimicrobianos: penicilina - 04, amoxicilina - 04, ampicilina - 04, ceftiofur - 50, cefaperina - 10, sulfametazina - 50 a 100, sulfadimetoxina - 10, gentamicina - 100 a 300, oxitetraciclina - 100 a 150 e tilosina - 40 a 50.

Após descongelamento lento, as amostras foram pré-aquecidas a 80° C por 10 minutos, para eliminação de inibidores naturais, eliminando parcialmente os falso-positivos. A seguir foram introduzidas 100µl de cada amostra nos tubos identificados, contendo os esporos do microrganismo, nutrientes, corante púrpura de bromocresol e ágar e após foram incubados a 65° C por três horas (variação de 15 minutos).

O bacilo em contato com a amostra, cresce rapidamente e produz ácido, com conseqüente mudança da cor púrpura do corante de bromocresol para o

amarelo, pelo abaixamento do pH. Quando isso ocorre indica resultado negativo para presença de inibidores microbianos, ou seja, teste negativo.

O resultado é positivo para presença de inibidores microbianos, quando após incubação o bacilo não se desenvolve, mantendo-se a cor púrpura ou tonalidade intermediária, ou seja, teste positivo.

A leitura deste ensaio é realizada com apoio de uma tabela de cores fornecida pelo fabricante do kit., onde as cores de 1 a 2 indicam resultado negativo e de 4 a 5, resultado positivo (Figura 2).

FIGURA 2 – COMPARAÇÃO DE CORES PARA DETERMINAÇÃO DO RESULTADO



3.2.5 Análise de Contagem de Células Somáticas e Determinação da Composição do Leite

A CCS foi realizada por Somacount 500 - Contador Eletrônico de Células por Fluorescência-Bentley. As amostras foram primeiramente aquecidas a 40° C por 5 minutos e, em seguida homogeneizadas. Os núcleos (DNA) das células somáticas foram corados com brometo de etílio e expostos a um *laser*, ocorrendo a emissão de luz fluorescente, através do complexo núcleo-corante. O detalhamento desta técnica seguiu as instruções do fabricante (BENTLEY INSTRUMENTS, 1994).

Análise da composição físico-química do leite compreendeu a determinação do teor de sólidos totais, gordura, lactose e proteínas através do Analisador Eletrônico de Leite por Radiação de Infravermelha - Bentley Instruments, específico para produtos lácteos e líquidos. O aparelho aspira em torno de 5 mL da amostra a

ser analisada, que foi aquecida a 40°C e a quantificação das substâncias é realizada por meio de leitura de seu espectro, utilizando a faixa de infravermelho (BENTLEY INSTRUMENTS, 1994).

3.2.6 Análise Estatística

Recorreu-se à análise descritiva dos dados através de tabelas, quadros e gráficos. Para a avaliação dos objetivos propostos neste trabalho foram utilizados os testes não-paramétricos “Mann-Whitney”, “Comparação entre duas Proporções” (através do *software* “*Primer of Biostatistics*”), “Qui-Quadrado” e “Exato de Fisher” (pelo *software* Epi-Info), para amostras independentes. O nível de significância (probabilidade de significância) mínimo adotado foi de 5% (0,05) (GLANTZ, 1997; CENTER FOR DISEASE CONTROL & PREVENTION, 1997).

Uma prova estatística não paramétrica é uma prova cujo modelo não especifica condições sobre os parâmetros da população da qual se extraiu a amostra, enquanto uma prova paramétrica especifica certas condições.

A estatística não paramétrica foi a opção de tratamento na maioria das variáveis, em função dos dados serem predominantemente do tipo discreto, como exemplos: presente ou ausente, sim ou não.

4 ANÁLISE DOS RESULTADOS

Os resultados foram analisados a partir de uma caracterização inicial dos produtores, onde foram pesquisados os fatores de risco que possam contribuir para presença de resíduos antimicrobianos. A partir de coletas de amostras avaliou-se a ocorrência de resíduos antimicrobianos e sua presença nos diferentes intervalos de CCS.

4.1 CARACTERIZAÇÃO DOS PRODUTORES

Os 80 produtores que participaram desta pesquisa, conforme descrito em Material e Métodos, foram agrupados segundo o volume de produção leiteira em quatro grupos: com produção até 200 L/dia, de 201 a 400, de 401 a 800 e acima de 800 L/dia. O número total de vacas ordenhadas/dia foi de 3111, com uma média diferenciada nos 4 grupos (Tabela 3).

O percentual de participação dos produtores em relação ao volume médio de leite/dia por propriedade é crescente nos 4 grupos, sendo que os produtores até 200 L/dia (38,8%) produzem 8,8% da produção média leiteira, enquanto os produtores acima de 800 L/dia (12,5%) participam com 51,2% do volume de leite pesquisado (Tabela 3, Gráfico 1).

TABELA 3 - CARACTERIZAÇÃO DOS PRODUTORES SEGUNDO VOLUME DE PRODUÇÃO (LITROS), VACAS ORDENHADAS E VOLUME DE LEITE

VOLUME DE PRODUÇÃO (L/dia)	PRODUTORES		Nº DE VACAS ORDENHADAS		VOLUME MÉDIO DE LEITE / DIA				
	Nº	%	Nº	Média	Nº	%	Média	D. P.	Mediana
Até 200	31	38,8	461	14,9	3 769	8,8	121,6	± 52,7	110,0
201 a 400	20	25,0	558	27,9	6 182	14,4	309,1	± 68,4	-
401 a 800	19	23,7	913	48,0	10 933	25,6	575,4	± 121,1	-
Mais de 800	10	12,5	1 179	117,9	21 884	51,2	2 188,4	± 1.565,4	1.875,0
TOTAL	80	100,0	3 111	38,9	42 768	100,0	534,6 ⁽¹⁾	± 843,3	291,0

(1) Desvio padrão e mediana constam no Apêndice 4, Quadro 6

A ordenha mecânica com sistema aberto é predominante no universo pesquisado (56,2%). A ordenha manual é realizada apenas nas propriedades até 200 L/dia e os demais sistemas são utilizados nos quatro grupos (Tabela 4).

GRÁFICO 1 – PERCENTUAL DE PRODUÇÃO LEITEIRA EM RELAÇÃO AO VOLUME DE PRODUÇÃO (L/DIA)

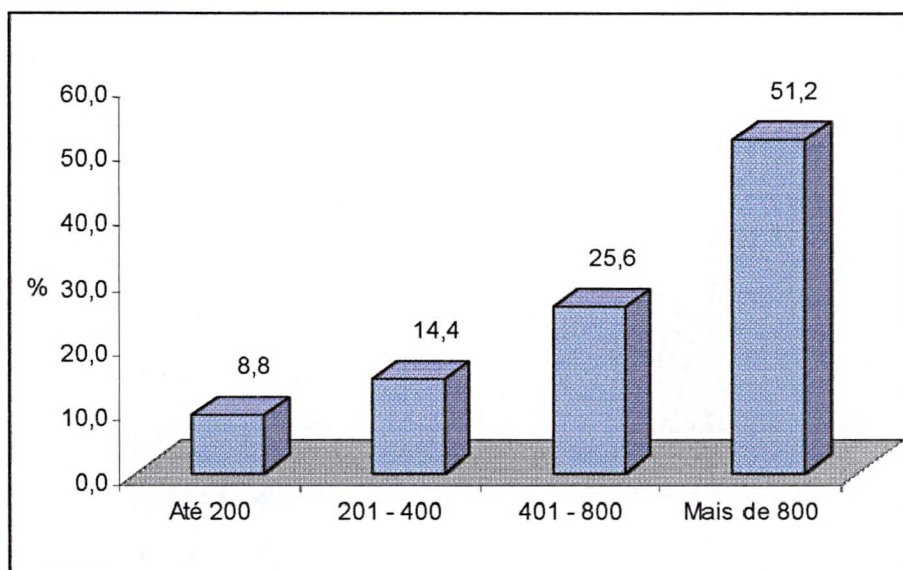


TABELA 04 - SISTEMA DE ORDENHA EM RELAÇÃO AO VOLUME DE PRODUÇÃO

VOLUME DE PRODUÇÃO (L/DIA)	MANUAL		MECÂNICA (SISTEMA ABERTO)		MECÂNICA (SISTEMA FECHADO)	
	N.º	%	N.º	%	N.º	%
até 200	09	100	20	44,4	02	7,7
201 - 400	-	-	16	35,6	04	15,3
401 - 800	-	-	08	17,8	10	38,5
mais de 800	-	-	01	2,2	10	38,5
TOTAL	09	100,0	45	100,0	26	100,0
Total de propriedades	80	11,3	80	56,2	80	32,5

Os dados pesquisados pela Secretaria de Estado da Agricultura demonstram que a bovinocultura de leite no Paraná se caracteriza como uma atividade de pequenas e médias propriedades. Mesmo assim a média de produção paranaense situa-se em 1.447 L/vaca/ano, sendo ligeiramente superior a nacional (1.199 L/vaca/ano), porém considerada muito baixa quando relacionada ao número de animais ordenhados (PARANÁ, 2000a).

Aproximadamente 62,5% da produção leiteira no estado concentra-se em propriedades com menos de 100 hectares, o que representa 61,4% das vacas em lactação. A partir desses dados observa-se que, enquanto poucos produzem muito, muitos produtores possuem baixa produção (MILKPOINT, 2000).

4.2 IDENTIFICAÇÃO DOS FATORES DE RISCO ASSOCIADOS AO USO DE ANTIMICROBIANOS

Os fatores de risco analisados através da pesquisa de campo foram: assistência veterinária, procedimento de ordenha no tratamento, descarte do leite apenas do quarto tratado, destino do leite descartado no tratamento, terapia de vacas secas, identificação dos animais e registro dos dados do tratamento, realização de exames de mastite, doenças em vacas leiteiras e utilização de medicamentos antimicrobianos.

4.2.1 Assistência Veterinária

Em relação a assistência veterinária 85,0% utilizam ocasionalmente e apenas 15,0% possuem esta assistência de forma permanente. Analisando-se nos quatro grupos, verificou-se que os produtores com menor volume de produção procuram assistência veterinária ocasionalmente (45,6%), enquanto que produtores com maior volume de produção, utilizam-na de forma permanente (75,0%). A utilização da assistência veterinária apresenta diferença significativa nos quatro grupos pesquisados ($p < 0,0001$) (Tabela 5).

TABELA 5 - ASSISTÊNCIA VETERINÁRIA, EM RELAÇÃO AO VOLUME DE PRODUÇÃO

VOLUME DE PRODUÇÃO (L/dia)	OCASIONAL		PERMANENTE		TOTAL	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Até 200	31	45,6	-	-	31	38,8
201 a 400	19	27,9	01	8,3	20	25,0
401 a 800	17	25,0	02	16,7	19	23,7
Mais de 800	01	1,5	09	75,0	10	12,5
TOTAL	68	100,0	12	100,0	80	100,0
• % do Total		85,0		15,0		-

$p < 0,0001$ (Exato de Fisher).

O código internacional que regulamenta as práticas de uso de medicamentos veterinários recomenda que o médico veterinário, após o diagnóstico, oriente a utilização correta desses produtos e mantenha supervisão direta sobre os

responsáveis pela terapia dos animais nas propriedades, bem como sobre os registros dos dados do tratamento (FAO, 1993).

A falta de assistência veterinária de forma rotineira nas propriedades leiteiras na Região Metropolitana de Curitiba (RMC) não atende as recomendações do código citado, acarretando em riscos do uso de antimicrobianos sem avaliação clínica dos animais.

4.2.2 Procedimento de Ordenha no Tratamento

A separação das vacas tratadas durante a ordenha é realizada em 91,2% das propriedades pesquisadas. Analisando este fator nos quatro grupos observa-se que os produtores com menor volume de produção são os que menos separam as vacas em tratamento no procedimento de ordenha (71,4%), porém não houve diferença significativa entre os grupos. Observa-se que nos três primeiros grupos há produtores que não separam os animais em tratamento na ordenha (Tabela 6).

TABELA 6 - PROCEDIMENTO DE ORDENHA NO TRATAMENTO EM RELAÇÃO AO VOLUME DE PRODUÇÃO

VOLUME DE PRODUÇÃO (L/dia)	NÃO SEPARA		SEPARA		TOTAL	
	N.º	%	N.º	%	N.º	%
Até 200	05	71,4	26	35,6	31	38,8
201 a 400	01	14,3	19	26,0	20	25,0
401 a 800	01	14,3	18	24,7	19	23,7
Mais de 800	-	-	10	13,7	10	12,5
TOTAL	07	100,0	73	100,0	80	100,0
• % do Total		8,8		91,2		-

$\chi^2_{\text{calc}} = 3,71$; $p = 0,2940$ (Qui-Quadrado).

SCHÄELLIBAUM (2000b) cita como segunda causa dos casos de contaminação por resíduos a não observação da sequência de ordenha dos animais em tratamento. O mesmo foi encontrado por ERSKINE (2000), que identificou este fator como terceiro grupo de causas.

4.2.3 Descarte do Leite Apenas do Quarto Tratado

A proporção de produtores que descartam o leite apenas do quarto tratado em relação aos que não descartam é de 41,3%. Apesar desse fator de risco ser mais presente no grupo de produtores com menor volume de produção (48,5%), sendo decrescente nos demais grupos não foi observada diferença estatística significativa, demonstrando a presença desse fator nos quatro grupos (Tabela 7).

TABELA 7 - DESCARTE DO LEITE APENAS DO QUARTO TRATADO EM RELAÇÃO AO VOLUME DE PRODUÇÃO

VOLUME DE PRODUÇÃO (L/dia)	SIM		NÃO		TOTAL	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Até 200	16	48,5	15	31,9	31	38,8
201 a 400	08	24,2	12	25,5	20	25,0
401 a 800	07	21,2	12	25,5	19	23,7
Mais de 800	02	6,1	08	17,1	10	12,5
TOTAL	33	100,0	47	100,0	80	100,0
• % do Total		41,3		58,7		-

$\chi^2_{\text{calc}} = 3,40$; $p = 0,3337$ (Qui-Quadrado).

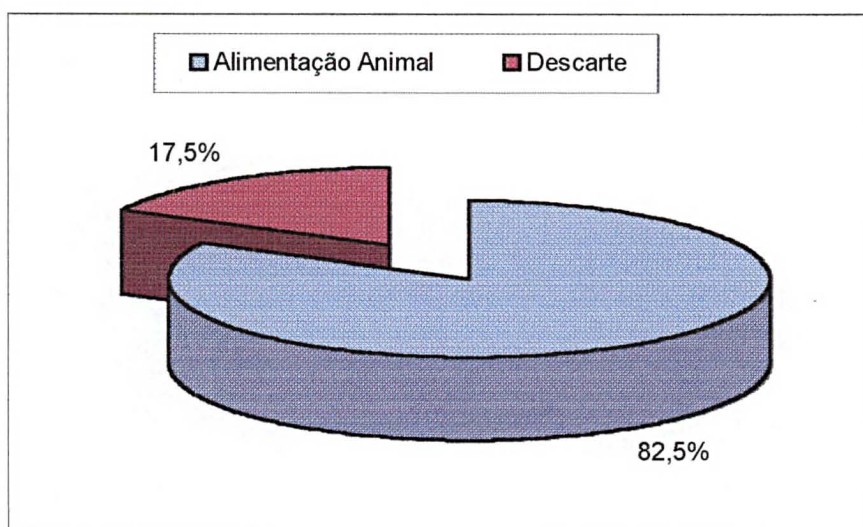
Os medicamentos utilizados em vacas lactantes por qualquer via de administração, seja intramamária, intramuscular, intra-uterina, subcutânea, sob a pele ou como fator de crescimento na alimentação pode resultar em resíduos no leite. Isso ocorre porque os produtos são absorvidos, caem na corrente sangüínea e conseqüentemente no leite (GALLINA et al., 1998; BRITO, 2000; FONSECA; SANTOS, 2000).

A importância do descarte do leite de todos os quartos de vacas em tratamento com antimicrobianos foi demonstrada por CARRARO (1999), que após aplicação de penicilina associada com carência de três dias, detectou presença de resíduos no leite de quartos não tratados no mínimo até o terceiro dia.

4.2.4 Destino do Leite Descartado no Tratamento

O leite descartado pelo tratamento com antimicrobianos, nas propriedades, é aproveitado para alimentação animal, principalmente de bezerros com (82,5%) (Gráfico 2).

GRÁFICO 2 - DESTINO DO LEITE DESCARTADO NO TRATAMENTO



ALVIM e BRANDÃO (2001) orientam que a eliminação de pequenas quantidades de leite (em torno de 10 a 500 litros) sejam utilizados na alimentação de bezerros e outros animais, como suínos e aves que não estão em produção de leite, ou que não serão abatidos para produção de carne no período.

A prática de alimentar animais com leite contendo resíduos antimicrobianos é preocupante. SCHWARZ e CHASLUS-DANCLA (2001) ressaltam que a aplicação profilática de antimicrobianos é criticada por um possível envolvimento na seleção de bactérias resistentes e disseminação de genes de resistência. Recentes discussões sobre uso de antibióticos como promotores de crescimento têm resultado em uma lista limitada de drogas avaliadas para esse propósito, devido ao risco da transferência desses genes.

Tornou-se uma preocupação mundial o impacto na saúde humana dos efeitos antimicrobianos de drogas utilizadas em alimentação animal, gerando a necessidade de se avaliar a quantidade de bactérias entéricas no trato intestinal de animais e o aumento da seleção de cepas resistentes, bem como a crescente resistência de bactérias zoonóticas aos antimicrobianos (LATHERS, 2001).

4.2.5 Terapia de Vacas Secas

Com a finalidade de otimizar a lactação subsequente há necessidade da secagem do leite de vacas antes do parto por um período de 60 dias, o qual é

denominado por período seco. O tratamento com antimicrobianos de longa duração, em todos os quartos no dia da secagem, para prevenção de novas infecções durante o período seco, é denominado terapia da vaca seca (FONSECA; SANTOS, 2000).

Avaliou-se que a terapia de vacas secas é realizada em 73,8% das propriedades, nem sempre de forma rotineira, sendo esse tratamento ocasional em 22,5%. O maior percentual de produtores que não tratam as vacas na secagem do leite são os de menor volume de produção (76,2%) ($p=0,0003$) (Tabela 8). Em todas as propriedades pesquisadas acima de 800 litros essa terapia é realizada rotineiramente.

TABELA 8 - TERAPIA DE VACAS SECAS EM RELAÇÃO AO VOLUME DE PRODUÇÃO

VOLUME DE PRODUÇÃO (L/dia)	NÃO		ROTINEIRA		OCASIONAL		TOTAL	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Até 200	16	76,2	11	26,8	04	22,2	31	38,8
201 a 400	04	19,0	08	19,5	08	44,5	20	25,0
401 a 800	01	4,8	12	29,3	06	33,3	19	23,7
Mais de 800	-	-	10	24,4	-	-	10	12,5
TOTAL	21	100,0	41	100,0	18	100,0	80	100,0
• % do Total		26,2		51,3		22,5		-

$\chi^2_{\text{calc}} = 18,59$; $p = 0,0003$ (Qui-Quadrado).

HILLERTON et al. (1998), FONSECA e SANTOS (2000) ressaltam a extrema importância da terapia de vaca seca para prevenção de novos casos de mastite durante o período seco, pois a taxa de novas infecções diminui significativamente com o tratamento no dia da secagem.

Porém, o uso da terapia na secagem de vacas pode tornar-se fator de risco, quando o período seco é diminuído, ou quando são tratadas vacas em lactação com produtos para vacas secas (BRITO, 2000; SAVILLE; WITTUM; SMITH, 2000).

ERSKINE (2000) observou que o tratamento de vacas secas foi responsável por 25% dos casos de violação por resíduos antimicrobianos no leite. O autor orienta a identificação e separação imediata de vacas após terapia na secagem.

4.2.6 Identificação dos Animais e Registro dos Dados do Tratamento

A identificação através de alguma forma visível de marcação nos animais em tratamento, como uso de pulseira ou pintando com *spray* é realizada em apenas 15,0% do universo. As anotações de registro do tratamento dos animais são realizadas em 31,2% (Tabela 9).

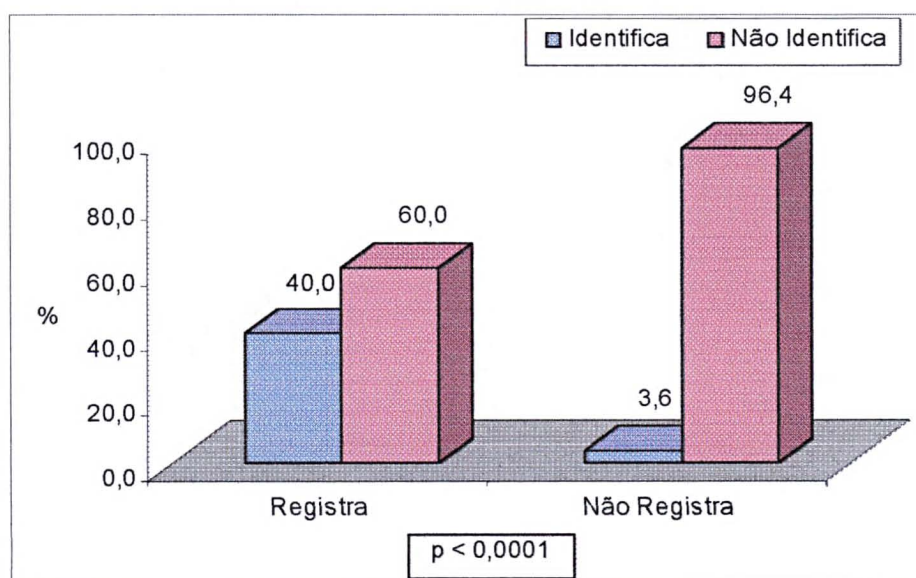
Analizando estes dois fatores em conjunto observa-se que a maioria dos produtores não realiza a identificação dos animais em tratamento e também não registra os dados (96,4%) ($p < 0,0001$) (Gráfico 3).

TABELA 9 - REGISTRO DO TRATAMENTO DOS ANIMAIS EM RELAÇÃO À IDENTIFICAÇÃO DOS ANIMAIS EM TRATAMENTO

IDENTIFICAÇÃO	REGISTRA		NÃO REGISTRA		TOTAL	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Sim	10	40,0	02	3,6	12	15,0
Não	15	60,0	53	96,4	68	85,0
TOTAL	25	100,0	55	100,0	80	100,0
• % do Total		31,2		68,8		-

$p < 0,0001$ (Fisher).

GRÁFICO 3 - REGISTRO DO TRATAMENTO DOS ANIMAIS, EM RELAÇÃO À IDENTIFICAÇÃO DOS ANIMAIS EM TRATAMENTO



Entre os dados de registro do tratamento dos animais realizados na propriedade, observa-se que a data de início do tratamento e o tempo de carência são os procedimentos mais adotados (88,0%) ($p < 0,0001$) seguido pelo tratamento utilizado (80,0%) ($p < 0,0001$) (Tabela 10).

Observa-se que são menos registrados a identificação do quarto tratado (44,0%), o tempo de tratamento (44,0%) e a data do fim do tratamento (60,0%) (Tabela 10).

TABELA 10 - DADOS DO REGISTRO DO TRATAMENTO DOS ANIMAIS

DADOS	NÚMERO	PERCENTUAL
Identificação Quarto Tratado	11	44,0
Tratamento Utilizado	20	80,0
Tempo de Tratamento	11	44,0
Data Início Tratamento	22	88,0
Data Fim Tratamento	15	60,0
Tempo de Carência	22	88,0
TOTAL	101 / 25	4,0 / produtor

NOTAS: Nenhum dos produtores relata teste de resíduos.
 Data de início e tempo de carência $\rightarrow z_{\text{calc}}=5,091$; $p < 0,0001$
 e tratamento utilizado $\rightarrow z_{\text{calc}}=3,960$; $p < 0,0001$ (Proporção).
 101 tipos de registros relatados por 25 produtores
 4,0 = proporção de registros por produtores.

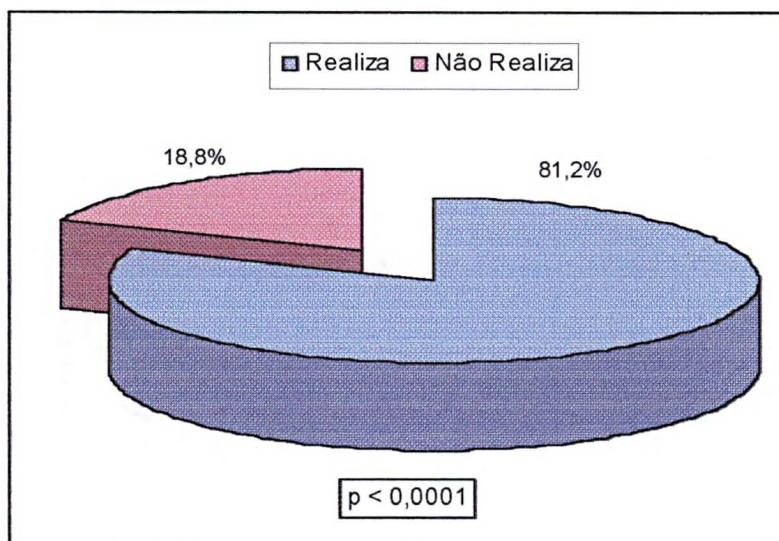
A falta de identificação e registro dos tratamentos estão entre as principais causas que podem levar a ocorrência de resíduos antimicrobianos no leite (ERSKINE, 2000; SANTOS, 2000).

Além do baixo percentual na identificação e registro dos animais, a falta de rotina na anotação dos dados levantados, pode levar a erros no prazo de liberação do leite para consumo.

4.2.7 Realização de Exames de Mastite

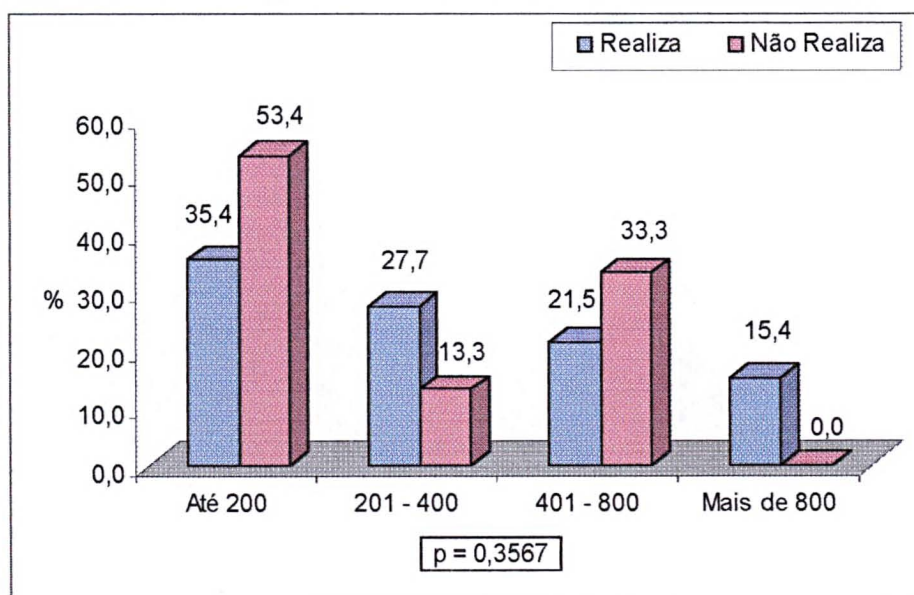
A maioria dos produtores relataram que realizam exames de mastite em seus animais (81,2%) ($p < 0,0001$) (Gráfico 4).

GRÁFICO 4 - REALIZAÇÃO DE EXAMES DE MASTITE



No cruzamento desses dados com o volume de produção observa-se que os produtores com menor volume de produção são os que menos realizam os exames de mastite (53,4%) e todos os produtores acima de 800 litros realizam esses exames, porém sem diferença significativa (Gráfico 5).

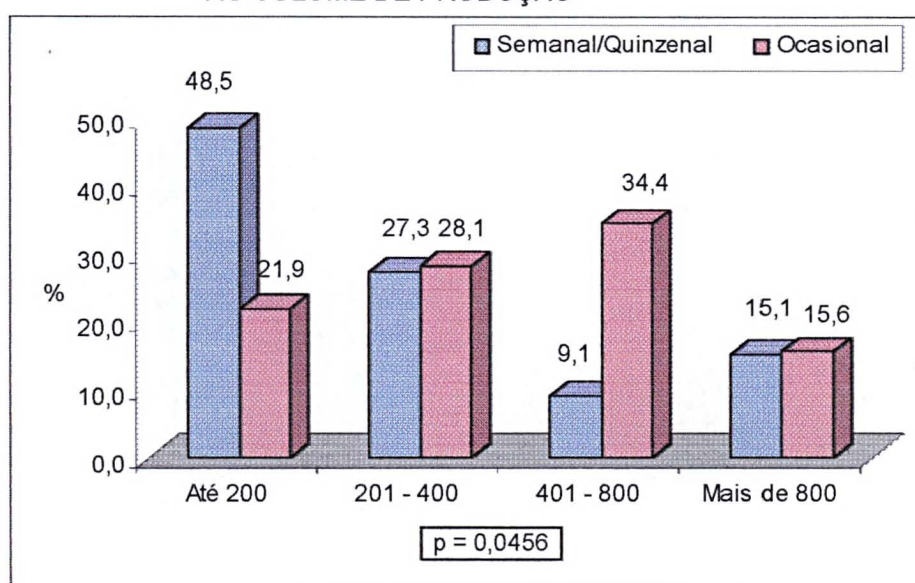
GRÁFICO 5 - REALIZAÇÃO DE EXAMES DE MASTITE EM RELAÇÃO AO VOLUME DE PRODUÇÃO



A proporção de produtores que realizam os exames com frequência semanal/quinzenal em relação aos que realizam ocasionalmente é a mesma ($p=0,994$).

No cruzamento dos dados com o volume de produção observa-se que, tanto a frequência semanal/quinzenal, como ocasional, ocorre nos quatro grupos pesquisados, não sendo demonstrada diferença significativa entre os mesmos ($p=0,0456$) (Gráfico 6).

GRÁFICO 6 - FREQUÊNCIA DOS EXAMES DE MASTITE EM RELAÇÃO AO VOLUME DE PRODUÇÃO



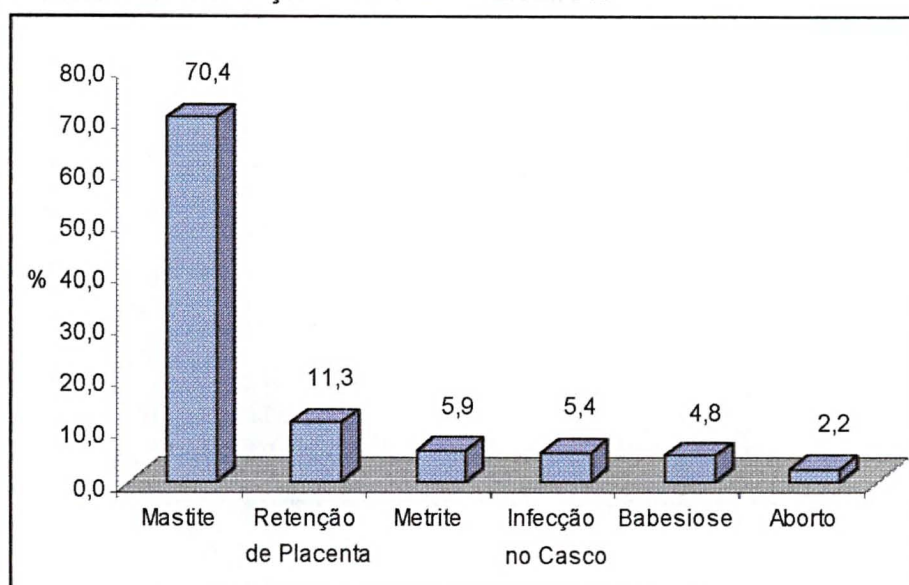
A forma subclínica da mastite é responsável por 70% ou mais das ocorrências dessa doença (BLOOD; RADOSTITS, 1991; FONSECA; SANTOS, 2000).

O diagnóstico da mastite e o monitoramento dos seus índices no rebanho são importantes componentes das medidas de controle para diminuição dessa doença e conseqüente redução no uso de antimicrobianos. O exame realizado de forma ocasional, geralmente por demanda do aumento da mastite clínica no rebanho não cumpre seu papel de detectar os casos subclínicos.

4.2.8 Doenças em Vacas Leiteiras

Entre as doenças em vacas leiteiras relatadas pelos produtores, a mastite foi a mais significativa (70,4%) ($p<0,0001$) (Gráfico 7).

GRÁFICO 7 - DOENÇAS EM VACAS LEITEIRAS



Vários autores relacionam a antibioticoterapia por infusão intramamária no tratamento de mastite a principal responsável por resíduos antimicrobianos no leite (INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION, 1997; GALLINA et al., 1998; SCHÄELLIBAUM, 2000b).

Esta alta significância para mastite corrobora com os resultados encontrados por McEWEN, BLACK e MEEK (1992), em que 92,8% das vacas leiteiras foram tratadas para mastite, e o restante dos casos foram principalmente por infecção de casco, metrite, retenção de placenta e pneumonia.

4.2.9 Utilização de Medicamentos Antimicrobianos

Na pesquisa sobre a utilização de antimicrobianos, dos 80 produtores entrevistados 13 não usaram ou não lembraram o nome dos produtos no período de três meses. Entre os 67 que relataram, foi descrito o uso de 186 medicamentos antimicrobianos, dos quais foram citados 41 produtos. Para avaliação da utilização desses produtos, os mesmos foram listados segundo seus princípios ativos, dosagem e período de carência recomendados pelos fabricantes (Apêndice 3, Quadro 4).

A penicilina associada foi o antimicrobiano mais utilizado pelos produtores (24,7%)(Gráfico 8).

Entre as associações de penicilina foram mais comuns o uso de penicilina + novobiocina + polimixina + di-hidro-estreptomicina, di-hidro-estreptomicina + penetemato e penicilina + estreptomicina (Tabela 11).

GRÁFICO 8 - ANTIMICROBIANOS MAIS UTILIZADOS EM VACAS LACTANTES

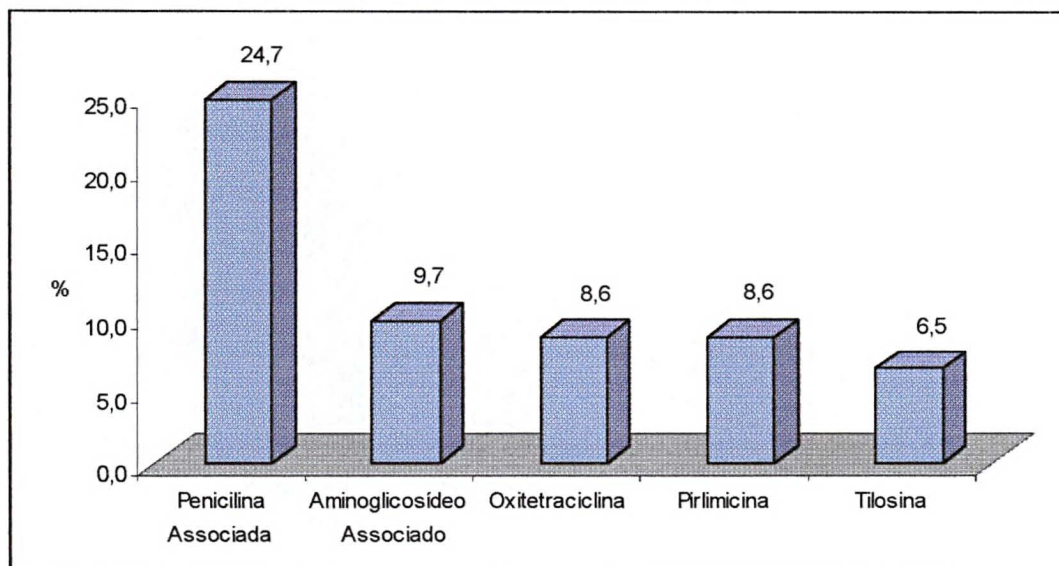


TABELA 11 - ANTIMICROBIANOS MAIS UTILIZADOS EM VACAS LACTANTES

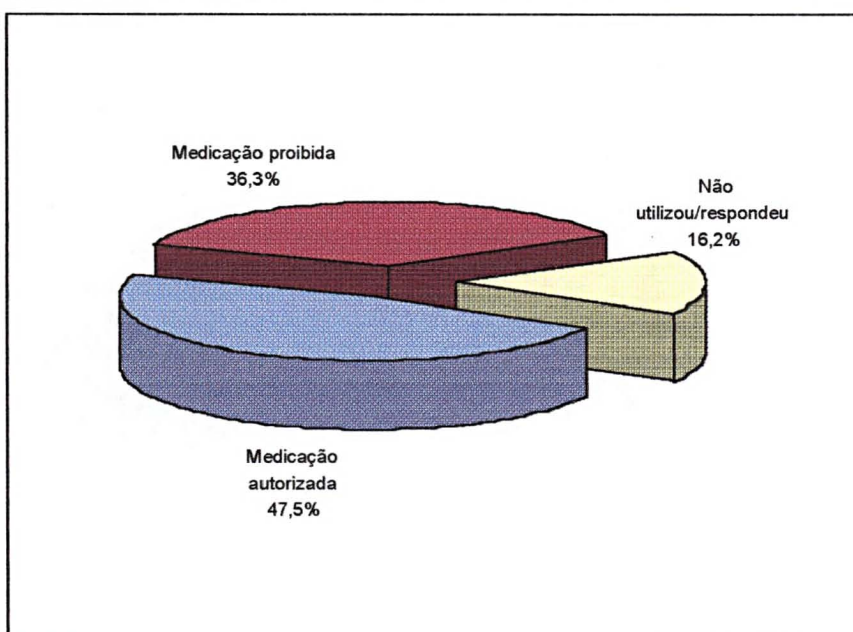
ANTIMICROBIANOS	NÚMERO	PERCENTUAL
Penicilina Associada	46	24,7
• Penicilina+novobiocina+polimixina+di-hidro-estreptomicina	21	11,3
• Di-hidro-estreptomicina+penetemato	13	7,0
• Peniciliana+estreptomicina	12	6,4
Aminoglicosídeo Associado (Espiramicina+neomicina)	18	9,7
Oxitetraciclina (Tetraciclina)	16	8,6
Pirlimicina	16	8,6
Tilosina (Macrolídios)	12	6,5
Demais Produtos	78	41,9
TOTAL	186	100,0

Segundo SCHÄELLIBAUM (2000b) os antibióticos predominantemente usados no tratamento intramamário em todo o mundo são os β -lactâmicos, aminoglicosídeos, tetraciclina e macrolídios. Destes, as drogas mais utilizadas são as β -lactâmicas.

Este resultado concorda com os encontrados por McEWEN, BLACK e MEEK (1992), onde as associações com penicilina corresponderam a 76,1% dos tratamentos nas propriedades pesquisadas.

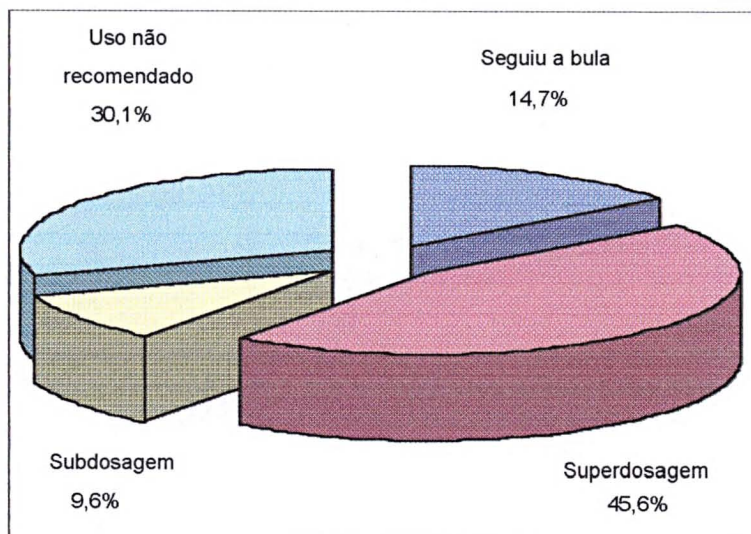
O uso de medicação autorizada foi praticada em 47,5% das propriedades, em 36,3% houve uso de medicação proibida para vacas lactantes e 16,2% não utilizaram ou não responderam (Gráfico 9).

GRÁFICO 9 - USO DE ANTIMICROBIANOS NAS PROPRIEDADES



Avaliando a dosagem aplicada observou-se um percentual elevado de produtores que realizaram a superdosagem (45,6%), sendo que em 30,1% das respostas houve uso não recomendado, seguiram a bula (14,7%) e praticaram a subdosagem (9,6%) (Gráfico 10).

GRÁFICO 10 - AVALIAÇÃO DA DOSAGEM APLICADA



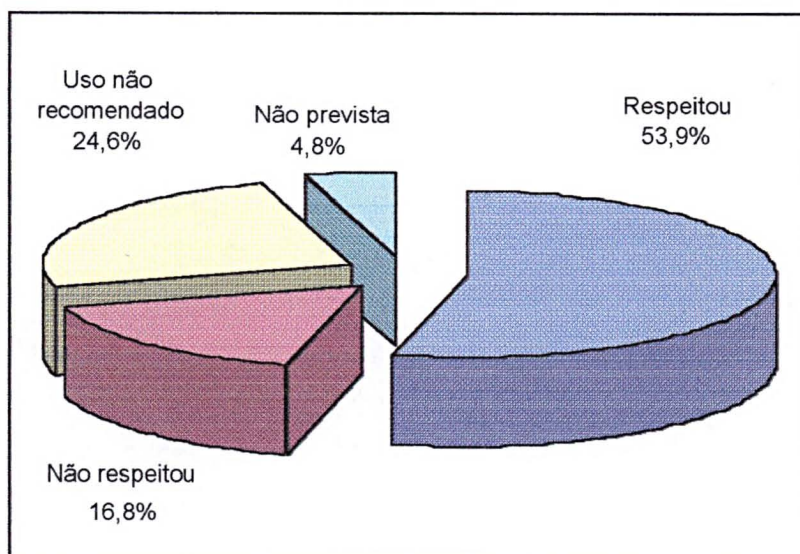
A utilização de superdosagem encontrada nessa pesquisa foi similar aos resultados encontrados por McEWEN, BLACK e MEEK (1992), que observaram essa prática em 49,3% dos tratamentos estudados, os quais foram associados ao aumento de 3,8 vezes mais de riscos da presença de resíduos no leite após o período de carência, em comparação a vacas tratadas conforme orientação da bula.

A ocorrência da subdosagem pode estar relacionada a aparente melhora clínica do animal.

SCHWARZ e CHASLUS-DANCLA (2001) apontam a aplicação profilática de antimicrobianos como um possível fator de envolvimento na seleção de bactérias resistentes e na disseminação dos genes de resistência.

Na avaliação da carência utilizada, observou-se um percentual elevado de produtores que respeitaram o período de carência (53,9%) (Gráfico 11).

GRÁFICO 11 - AVALIAÇÃO DA CARÊNCIA UTILIZADA



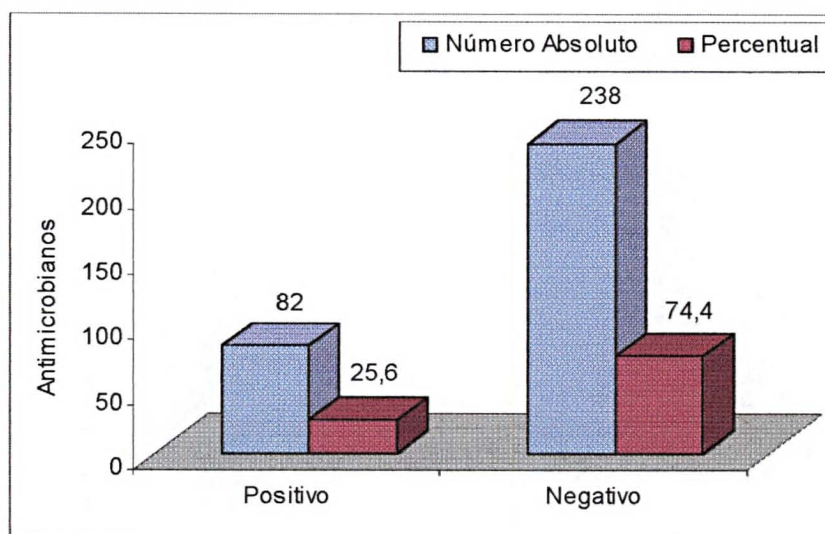
Em relação ao não cumprimento do período de carência, diversos estudos apontam este fator como a primeira causa para incidência de resíduos antimicrobianos no leite (SCHÄELLIBAUM, 2000b; SEYMOUR; JONES e MCGILLIARD, 1988; McEWEN; BLACK; MEEK, 1992).

O fato do produtor utilizar antimicrobianos não recomendados para vacas lactantes, bem como medicamentos sem a carência prevista na bula, pode contribuir para a ocorrência de resíduos no leite.

4.3 AVALIAÇÃO DA INCIDÊNCIA DE RESÍDUOS ANTIMICROBIANOS

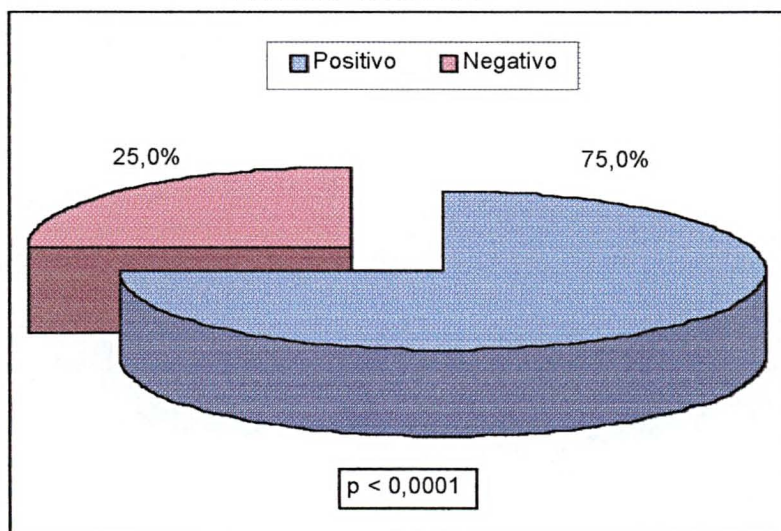
Foram analisadas um total de quatro amostras em cada uma das 80 propriedades, totalizando 320, das quais 82 foram positivas representando 25,6% (Gráfico 12).

GRÁFICO 12 - INCIDÊNCIA DE ANTIMICROBIANOS NAS 320 AMOSTRAS ANALISADAS



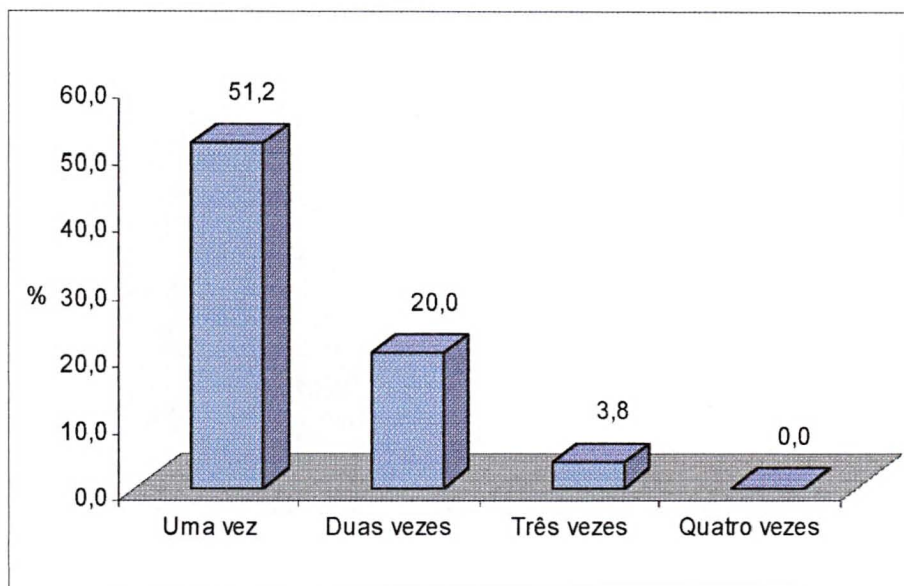
A avaliação antimicrobiana nas propriedades pesquisadas demonstra que em 75,0% das mesmas foram encontrados resíduos ($p < 0,0001$) (Gráfico 13).

GRÁFICO 13 - PROPRIEDADES COM PRESENÇA DE ANTIMICROBIANOS



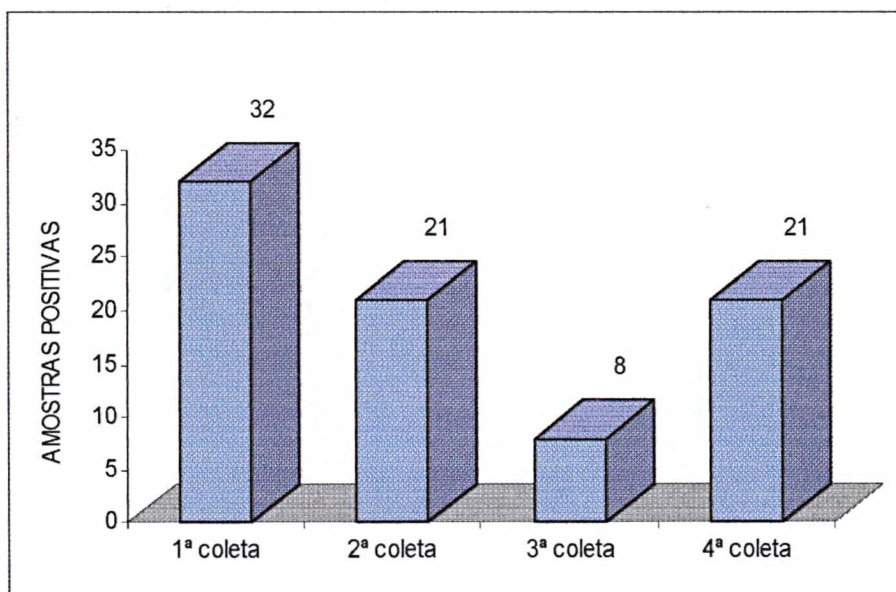
A incidência de positividade nas quatro amostras analisadas no período da pesquisa foi de uma vez em 51,2% das propriedades, duas vezes em 20,0% e três vezes em 3,8% (Gráfico 14).

GRÁFICO 14 - INCIDÊNCIA DE POSITIVIDADE PARA ANTIMICROBIANOS NAS QUATRO AMOSTRAS ANALISADAS



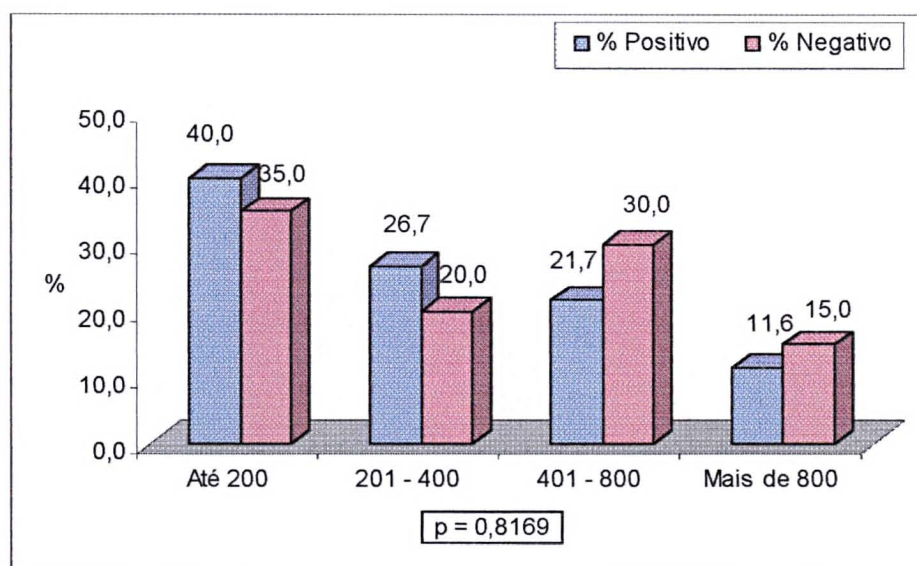
O número de amostras positivas (32), para resíduos antimicrobianos foi maior na primeira coleta (Gráfico 15).

GRÁFICO 15 - NÚMERO DE AMOSTRAS POSITIVAS, SEGUNDO ETAPA DE COLETA



A incidência de positividade em relação ao volume de produção não apresentou diferença significativa nos grupos pesquisados ($p=0,8169$) (Gráfico 16).

GRÁFICO 16 - PERCENTUAL DE AMOSTRAS POSITIVAS E NEGATIVAS PARA ANTIMICROBIANOS, EM RELAÇÃO AO VOLUME DE PRODUÇÃO



A presença de resíduos antimicrobianos em leite de tanque de propriedades da RMC corroboram com os resultados encontrados nas pesquisas realizadas em São Paulo, Londrina, Belo Horizonte, Fortaleza e Santa Catarina, citados na revisão deste trabalho, nos quais foram analisados diferentes tipos de leites. Os mesmos encontraram resíduos antimicrobianos com grande variação, entre 3,9% e 69,7%.

Como os trabalhos citados no Brasil são sobre leite de consumo e nesta pesquisa avaliou-se tanques de propriedades, não é possível a comparação direta desses percentuais.

O mesmo pode ocorrer na análise de leite de tanque em relação ao leite individual de vacas medicadas, que quando misturado ao leite de vacas não medicadas é diluído, podendo haver leite de tanque contaminado com resíduos antimicrobianos abaixo dos limites de detecção (GALLINA et al., 1998).

Como o método utilizado nesta pesquisa baseia-se na inibição do crescimento bacteriano, o mesmo é considerado um teste de rastreamento. Embora seja grande a possibilidade dos resultados encontrados representarem resíduos de antibióticos ou quimioterápicos, há necessidade de testes confirmatórios.

A incidência de resíduos antimicrobianos sem diferença significativa em relação ao volume de produção concorda com os resultados encontrados por ERSKINE (2000), o qual constatou, em levantamento realizado através do Departamento de Agricultura de Michigan, que o tamanho do rebanho não é fator de risco para ocorrência de violação por resíduos no leite.

O fato de 75,0% das propriedades apresentarem incidência de resíduos variando entre uma a três vezes nas quatro amostras analisadas, sendo que a pesquisa foi realizada em curto período de tempo (janeiro a maio), pode indicar que a incidência de resíduos na RMC seja maior que a demonstrada neste trabalho.

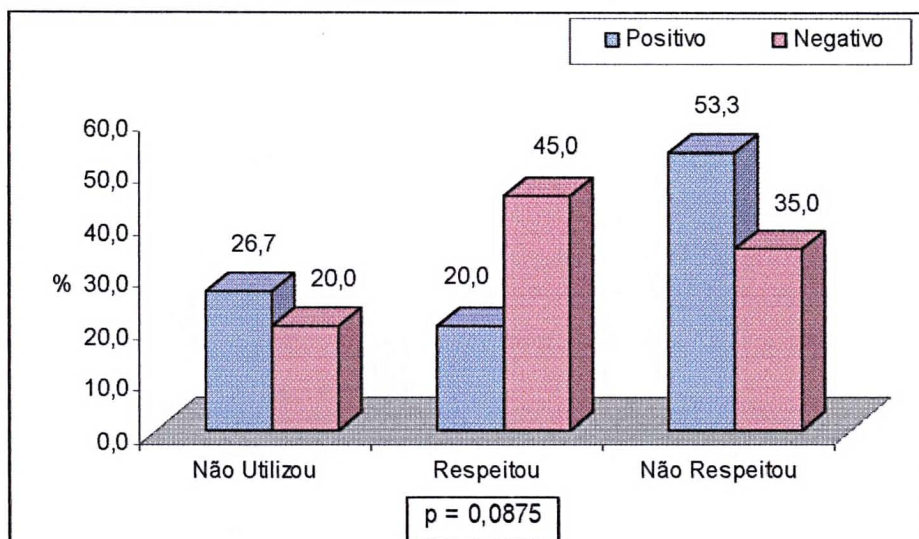
4.4 ANÁLISE COMPARATIVA DA AVALIAÇÃO DOS FATORES DE RISCO COM INCIDÊNCIA DE RESÍDUOS ANTIMICROBIANOS

Comparou-se o perfil dos produtores e os fatores de risco com os dados da avaliação antimicrobiana (positivo x negativo), utilizando-se tratamento não paramétrico na análise das diversas variáveis (Apêndice 4, Quadros 6, 7 e 8).

Está análise não demonstrou significativa em nenhuma das comparações, entretanto ressalta-se que na avaliação antimicrobiana positiva, em relação ao grupo de produtores que não respeitou a carência prevista, foi observado maior percentual de resíduos (53,3%) ($p=0,0875$) (Gráfico 17).

Esta correlação detectada demonstra uma probabilidade limítrofe em relação a $p<0,05$, indicando que pode haver uma significância real não detectada nesta pesquisa.

GRÁFICO 17 - CARÊNCIA UTILIZADA EM RELAÇÃO À AVALIAÇÃO ANTIMICROBIANA



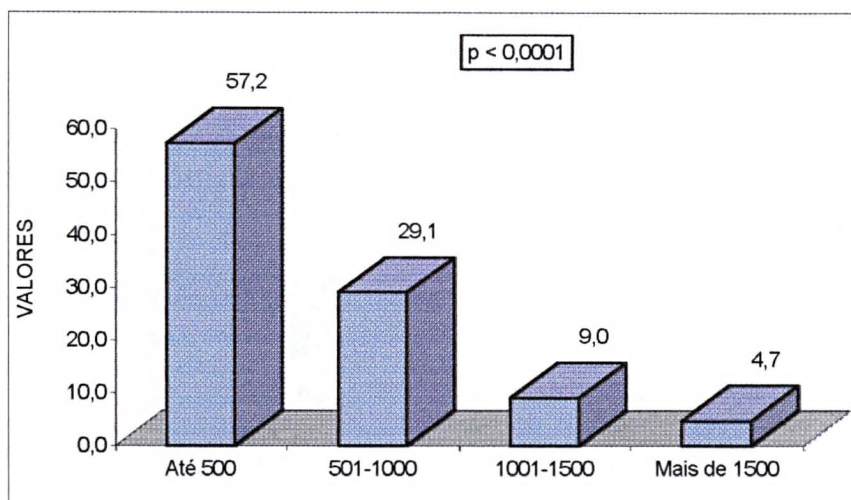
O não cumprimento do período de carência estabelecido é apontado entre as primeiras causas de violações por resíduos, como já citado anteriormente.

4.5 RELAÇÃO DA INCIDÊNCIA DE RESÍDUOS ANTIMICROBIANOS COM CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS - CCS

As 320 amostras analisadas foram classificadas segundo os resultados de CCS ($\times 1000/\text{mL}$), em quatro grupos: grupo 1 para amostras com CCS abaixo de 500 cél./mL; grupo 2 para CCS de 501 a 1000; grupo 3 de 1001 a 1500 e, grupo 4, acima de 1500 cél./mL, seguindo a classificação para CCS em tanques utilizada por MACHADO; PEREIRA e SARRÍES (2000).

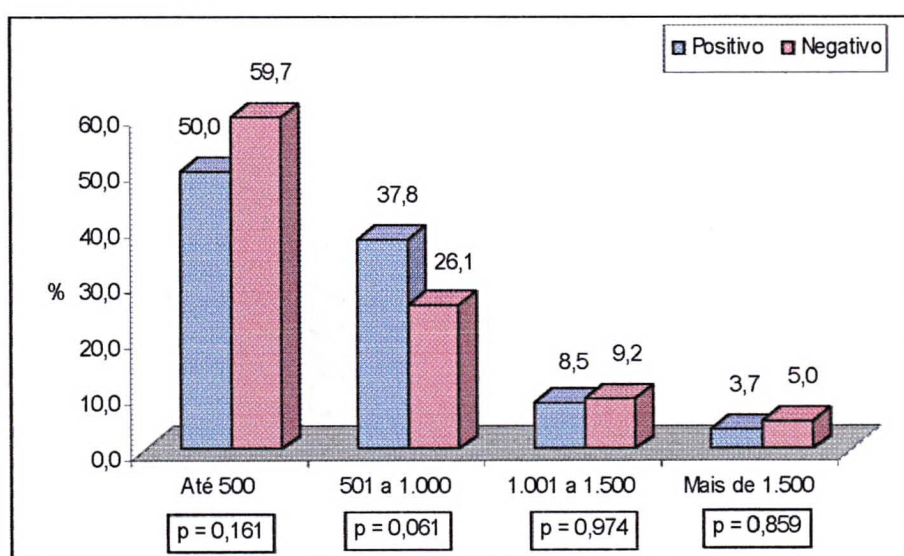
O resultado de CCS ($\times 1000/\text{mL}$) demonstrou que o maior número de amostras concentrou-se no intervalo de até 500 cél./mL (57,2%), sendo que 29,1% das amostras localizaram-se no intervalo 501 a 1000 cél./mL. (Gráfico 18).

GRÁFICO 18 - INTERVALOS DE CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS
(x 1000CÉL/ML)



Na comparação do intervalo de CCS com presença de antimicrobiano não foi observado diferença significativa, porém o intervalo de células somáticas compreendido entre 501 a 1000 cél./mL apresentou probabilidade limítrofe, demonstrando nesse intervalo maior número de amostras positivas em relação às negativas (Gráfico 19).

GRÁFICO 19 - AVALIAÇÃO ANTIMICROBIANA EM RELAÇÃO A CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS (x 1000CÉL./ML)



A maior incidência de resíduos no intervalo de 500 a 1000 cél./mL aponta a possibilidade de maior número de violações em propriedades acima de 500 a 1000 cél./mL. Este fato relaciona-se a uma maior incidência de mastite com conseqüente aumento do uso de antimicrobianos.

Estes resultados apesar de apontarem a necessidade de um estudo de maior número de amostras, concordam com os achados de diversos autores, os quais relacionaram o aumento de CCS com o aumento no número de violações por resíduos antimicrobianos (SARGEANT; SCHUKKEN; LESLIE, 1998; NMC, 1999; SAVILLE; WITTUM; SMITH, 2000).

Entretanto, um aumento da incidência de resíduos antimicrobianos foi observado na implantação dos programas de qualidade que avaliam CCS. Propriedades com altas CCS tiveram maiores freqüências de violações pelo aumento abusivo de antimicrobianos na tentativa da redução dessas contagens (SARGEANT; SCHUKKEN; LESLIE, 1998).

4.6 EFEITO DA CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS SOBRE OS CONSTITUINTES DO LEITE

Foi avaliado paralelamente o efeito da CCS sobre os constituintes do leite das amostras de tanque: % de gordura (G), proteína (P), lactose (L) e sólidos totais (S), visando informar o produtor sobre a composição do seu leite.

Os valores médios encontrados e os respectivos desvios padrões para %G, %P, %L, %S e CCS foram $3,57 \pm 0,52$; $3,22 \pm 0,26$; $4,47 \pm 0,18$; $12,02 \pm 0,74$ e $572,05 \pm 500,78$, respectivamente.

Em relação ao aumento de CCS e o % de gordura observou-se uma tendência de aumento nas %G nos grupos 2 e 3, e uma diminuição no grupo 4 (alta CCS) (Gráfico 20).

Na análise da proteína não foi observada uma variabilidade entre os quatro grupos, coerente com a literatura (Gráfico 21).

O percentual de lactose apresentou diminuição significativa com o aumento da CCS ou seja, valores mais elevados do %L para menores variações de CCS ($p < 0,0001$) (Gráfico 22).

Em relação %S não houve diferença significativa entre os quatro grupos, embora ocorra uma tendência de queda em seus percentuais com o aumento da CCS (Gráfico 23).

GRÁFICO 20 - PORCENTAGEM DE GORDURA EM RELAÇÃO A CON-
TAGEM DE CÉULAS SOMÁTICAS (x 1000CÉL./ML)

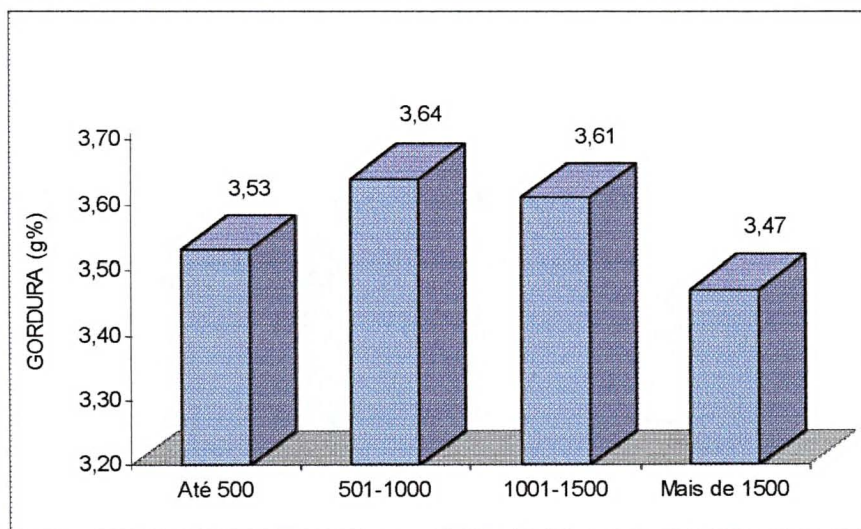


GRÁFICO 21 - PORCENTAGEM DE PROTEÍNA EM RELAÇÃO A CON-
TAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS (x 1000CÉL./ML)

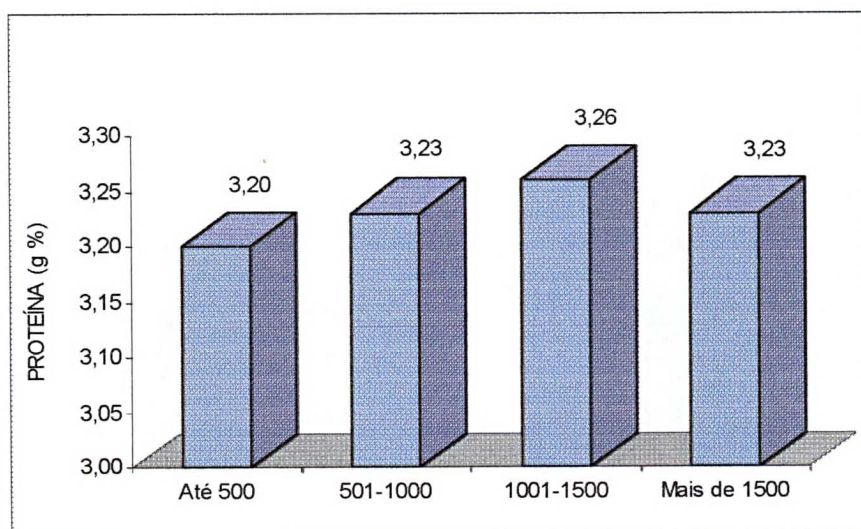


GRÁFICO 22 - PORCENTAGEM DE LACTOSE EM RELAÇÃO A CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS (x 1000CÉL./ML)

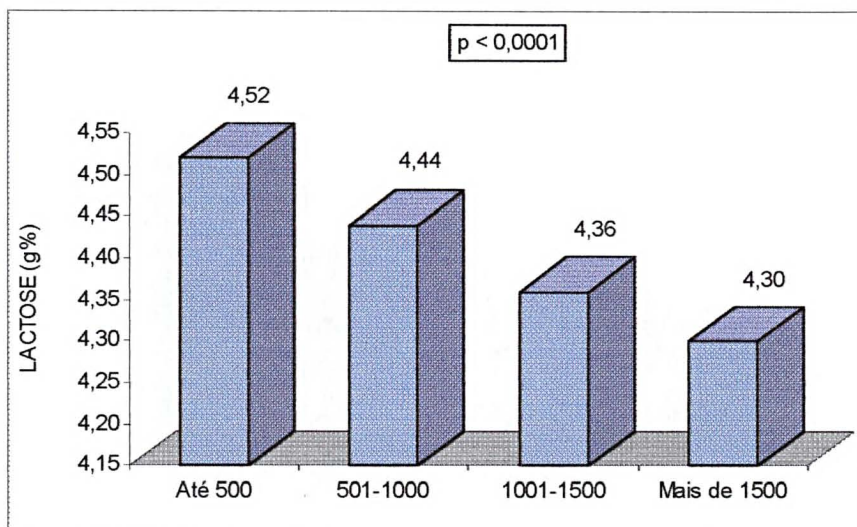
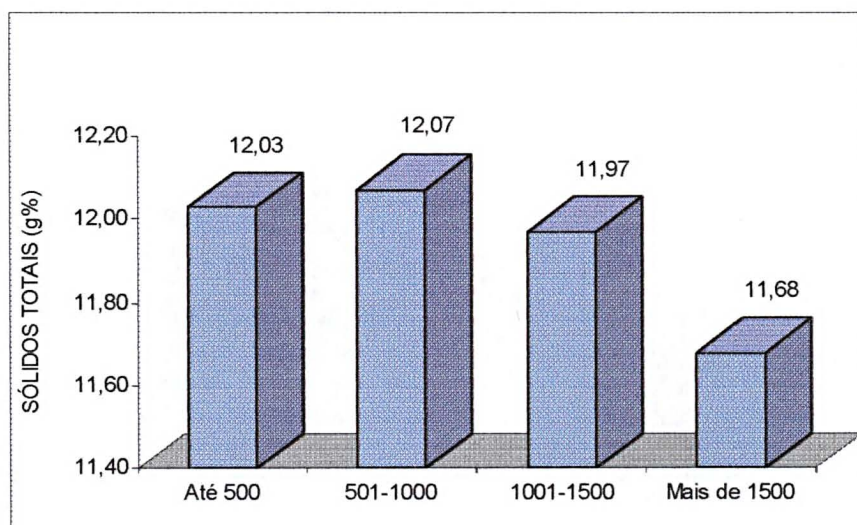


GRÁFICO 23 - PORCENTAGEM DE SÓLIDOS TOTAIS EM RELAÇÃO A CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS (x 1000CÉL./ML)



Ao correlacionar os intervalos de CCS em cada constituinte do leite separadamente foi observada diferença significativa apenas no %L. O %P permaneceu estável nos diferentes grupos pesquisados. Em relação aos %G e %S não houve diferença significativa nos quatro grupos, embora ocorra uma tendência de queda em seus percentuais com o aumento da CCS.

A literatura relata que a redução no %L é resultante da diminuição da síntese desse componente no leite em glândulas mamárias infectadas, pois ocorre utilização da lactose pelos patógenos intramamários e a perda para corrente sanguínea, devido ao aumento da permeabilidade da membrana que separa o leite do sangue, levando a excreção de lactose através da urina (HARDING, 1995; VARNAM; SUTHERLAND, 1995; SCHÄELLIBAUM, 2000a;).

A proteína apresenta tendência em permanecer estável nos quatro grupos estudados, pois a mesma é levemente influenciada por elevações da CCS, explicado pelo fato da redução na síntese de caseína ser compensada pela passagem de imunoglobulinas e de albumina do sangue para o leite (DÜRR, 2000; SCHÄELLIBAUM, 2000a).

A gordura do leite geralmente decresce em consequência da mastite, porém há casos de redução da quantidade de leite. Quando a proporção desta diminuição é superior a síntese de componentes, a porcentagem de gordura aumenta por efeito de concentração (SCHÄELLIBAUM, 2000a).

Os resultados desse estudo de efeito de CCS sobre os constituintes do leite em tanque remetem à necessidade de realização de novos experimentos, onde devem ser classificados os rebanhos pelas suas práticas de manejo (MACHADO; PEREIRA; SARRÍES, 2000).

Além da influência nos aspectos tecnológicos que estas variações de células somáticas causam, também os aspectos higiênicos que se relacionam com a porcentagem de quartos mamários infectados, há probabilidade menor de encontrar patógenos que afetem a saúde pública em leite com baixa CCS (DÜRR, 2000).

5 DISCUSSÃO

O leite é considerado uma importante fonte de nutrientes, compondo a dieta básica dos seres humanos, em especial de populações de risco, como crianças, gestantes, idosos e doentes.

O uso abusivo de antibióticos e quimioterápicos antimicrobianos no tratamento e prevenção da mastite tem gerado, como consequência, o aumento crescente desses resíduos no leite (HARDING, 1995; INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION, 1997).

Portanto, este produto e seus derivados devem possuir, além de propriedades nutricionais e de composição, parâmetros higiênicos, com realizações de práticas corretas no uso de antimicrobianos, que garantam um consumo seguro.

Os resíduos antimicrobianos no leite afetam a seguridade da saúde humana nos aspectos imunopatológicos, através das reações alérgicas, toxicológicos, pelas ações carcinogênicas e mutagênicas e aspectos microbiológicos, pelo aumento da resistência bacteriana (FAGUNDES, 1997; BRITO, 2000). Visando a proteção da saúde, são fixados os Limites Máximos Residuais - LMRs.

Porém, o leite pode conter um *pool* de diferentes antimicrobianos, em quantidades inferiores aos LMRs fixados, por ser um produto composto da mistura de diferentes produções. Nos aspectos imunopatológicos, revisados neste trabalho, as reações alérgicas, além de desencadeadas por concentrações muito baixas de antimicrobianos no leite, há a possibilidade da ocorrência de reações alérgicas cruzadas entre antibióticos do mesmo grupo. Quanto aos aspectos de resistência bacteriana SOUZA e BENEDET (2000) questionam quais seriam os níveis seguros de antibióticos presentes no leite com grande potencial para selecionar cepas bacterianas resistentes.

Os programas de avaliação de perigos e pontos críticos de controle - APPCC aplicados a produção de leite, consideram que o perigo de resíduo antimicrobiano deve ser eliminado nas etapas de produção e/ou transporte, anteriormente ao processo de industrialização (OLIVEIRA; CARNEIRO, 2000).

O levantamento do uso e detecção da presença de antimicrobianos no leite produzido na Região Metropolitana de Curitiba - RMC, surgiu da necessidade de se avaliar a incidência desses resíduos, considerando além dos resultados

laboratoriais, os fatores que podem estar contribuindo para a ocorrência dos mesmos nas propriedades.

O alto percentual de propriedades que apresentaram resíduos, no período da pesquisa (janeiro a maio de 2001), o qual representou parte do verão e outono, sugere que o percentual de amostras positivas possa estar subestimado em relação à realidade. Pesquisa realizada no leite de consumo, em Santa Catarina, demonstrou maior percentual de amostras positivas na primavera, relacionando esse resultado ao aumento da incidência de doenças infecciosas no rebanho no período de inverno e maior concentração de partos na primavera, com conseqüente aumento no uso de antibióticos (SOUZA, 1998).

Analizando a positividade das amostras em função da etapa de coleta, o maior número de amostras positivas ocorreu na primeira coleta, representando 39% do total de amostras positivas. Embora a presença de amostras positivas em relação a etapa de coleta não tenha sido melhor investigada, é possível que, sabendo que sua produção estava sendo avaliada, o produtor passou a ficar mais cuidadoso em relação aos procedimentos que poderiam levar ao aparecimento de resíduos no leite.

Estes dados demonstram a necessidade de um trabalho mais efetivo de controle por parte de indústrias e órgãos de fiscalização, através de análises laboratoriais, que além do rastreamento de amostras positivas utilizem métodos confirmatórios, que indiquem os grupos de antimicrobianos envolvidos.

A análise dos fatores de risco demonstrou percentuais elevados de práticas de risco, que podem contribuir para a ocorrência de resíduos, que são: a assistência veterinária ocasional, a prática de descarte do leite apenas do quarto tratado, a falta de identificação e registro dos dados do tratamento, bem como a prática da superdosagem e uso de antimicrobianos não recomendados durante a lactação.

Outros fatores que apresentaram um percentual menor nas práticas de risco para presença de antimicrobianos merecem atenção, como: frequência ocasional na realização de exames de mastite, não cumprimento do prazo de carência recomendado e prática de subdosagem. Os exames de mastite realizados ocasionalmente, demonstram a falta de práticas sanitárias na prevenção dessa doença. A falta de respeito ao prazo de carência recomendado relatado em

propriedades que apresentaram resíduos antimicrobianos, apontou para uma probabilidade real da influência deste fator para a ocorrência de violações.

Embora a prática da subdosagem e a utilização do leite contendo resíduos antimicrobianos não sejam fatores que colaborem diretamente para a presença dos mesmos, deve haver uma preocupação quanto a contribuição dessas práticas para o agravamento da situação de resistência aos antimicrobianos.

Sugere-se uma continuidade nos estudos dos fatores de risco levantados nesta pesquisa, bem como estudos de investigação nos casos positivos para resíduos antimicrobianos.

A mastite demonstrou ser a maior causa do uso de antimicrobianos em vacas leiteiras na RMC, devendo ser priorizado um programa de medidas preventivas no controle dessa doença, para a redução da utilização dos mesmos, como orientação do produtor quanto aos cuidados necessários para garantir uma segurança alimentar.

O levantamento dos antimicrobianos utilizados no curto período demonstrou a grande diversidade desses produtos nas casas agropecuárias da região. Um maior controle deve ser aplicado a venda de forma indiscriminada e sem o devido acompanhamento clínico no uso desses medicamentos.

As bulas dos antimicrobianos, que são um instrumento de informações para o produtor e médico veterinário devem apresentar informações mais precisas sobre a dose, número de aplicações, período de carência e os riscos à saúde dos consumidores. CARRARO (1999) sugeriu que rótulos e bulas de medicamentos devam conter esclarecimentos sobre os problemas que essas drogas possam causar à saúde humana.

As indústrias de medicamentos e seus responsáveis técnicos possuem a responsabilidade de garantir as informações da bula, através de estudos que respeitem os LMRs exigidos, no prazo de carência estabelecido. Também o Ministério da Agricultura deve exigir dados que comprovem a segurança dos produtos registrados.

A avaliação da incidência de resíduos antimicrobianos em diferentes intervalos de Contagem de Células Somáticas - CCS, demonstrou a possibilidade de uma tendência maior de incidência entre 501 mil a 1000 mil cél./mL. Este resultado aponta para a necessidade da continuidade desse trabalho, aumentando o número

de amostras, que torne possível um maior paracionamento dos intervalos de CCS, demonstrados nas pesquisas de SARGEANT, SCHUKKEN e LESLIE (1998) e SAVILLE, WITTUM e SMITH (2000).

No Brasil as recentes medidas de fixação dos limites de CCS, proposta na nova legislação (BRASIL, 1999a), bem como pelos programas de qualidade dos laticínios, podem levar ao maior uso de antimicrobianos visando à diminuição dessas contagens. Este fato foi observado na implantação de programas de qualidade, como citado por SARGEANT, SCHUKKEN e LESLIE (1998).

No avanço do controle de resíduos antimicrobianos não valem medidas isoladas e sim um trabalho interinstitucional, com envolvimento dos vários segmentos, participando universidades, as diversas esferas do governo, laboratórios de pesquisa, produtores e representantes da população, onde sejam traçadas diversas responsabilidades e ações necessárias, priorizando um sistema integrado de controle de resíduos e um repasse efetivo de informações aos produtores de leite, técnicos da área e consumidores.

6 CONCLUSÃO

A identificação dos fatores de risco associados ao uso de antimicrobianos em relação ao universo pesquisado demonstrou:

- a) a assistência veterinária é ocasional em 85,0% das propriedades, havendo diferença significativa entre os grupos;
- b) 91,2% dos produtores separam os animais em tratamento durante a ordenha, sendo que no grupo de produtores até 200L/dia 71,4% não realizam este procedimento;
- c) 41,3% descartam o leite apenas do quarto tratado. Embora produtores até 200L sejam os que mais realizam esta prática, ela ocorre nos quatro grupos pesquisados;
- d) 82,5% dos produtores utilizam o leite contendo resíduos antimicrobianos para alimentação animal, principalmente de bezerros;
- e) a terapia de vacas secas é praticada em 73,8% das propriedades, porém 22,5% desse tratamento é realizado de forma ocasional;
- f) 85,0% dos produtores não identificam os animais e 68,8% não registram os dados do tratamento. Na análise dos dois fatores em conjunto observa-se que a maioria dos que não realizam a identificação dos animais não registram os dados (96,4%). Os dados mais registrados são a data do início do tratamento e o tempo de carência, sendo menos registrados a data do fim do tratamento, a identificação do quarto tratado e o tempo de tratamento;
- g) 81,2% realizam exames de mastite, porém a frequência de realização semanal/quinzenal em relação a ocasional é a mesma;
- h) a mastite foi a doença mais significativa em vacas leiteiras (70,4%). Foram relatados também casos de retenção de placenta, metrite, infecção no casco, babesiose e aborto;
- i) a penicilina associada foi o antimicrobiano mais utilizado (24,7%). Também foram mais citados aminoglicosídeo associado (9,7%), oxitetraciclina (8,6%), pirlimicina (8,6%) e tilosina (6,5%). Houve uso de medicação não recomendada para vacas lactantes em 36,6% das propriedades pesquisadas;

- j) na avaliação da dosagem aplicada, apenas 14,7% dos produtores seguiram a bula, 45,6% realizaram superdosagem, em 30,1% das respostas houve uso de antimicrobiano não recomendado para vacas lactantes e 9,6% realizaram subdosagem;
- k) na avaliação da carência utilizada, 53,9% dos produtores respeitaram o período de carência, em 24,6% das respostas houve uso de antimicrobiano não recomendado para vacas lactantes, 16,8% não respeitaram o prazo estabelecido e em 4,8% das bulas a carência não estava prevista.

Nas análises de resíduos antimicrobianos, em 75,0% das 80 propriedades avaliadas foram detectadas presença dos mesmos, sendo que nas quatro amostras analisadas 51,2% tiveram uma amostra positiva, 20,0% apresentaram duas e em 3,8% houveram três amostras positivas. Das 320 amostras analisadas 82 apresentaram resíduos antimicrobianos (25,6%), sendo o número de amostras positivas maior na primeira coleta (32). Os resíduos ocorreram nas propriedades com diferentes volumes de produção, sem diferença significativa entre os grupos.

A análise comparativa da avaliação dos fatores de risco com incidência de resíduos antimicrobianos não demonstrou diferença significativa entre presença de resíduos e os fatores analisados. Entretanto, na análise dos produtores que não respeitaram a carência em relação a avaliação antimicrobiana positiva houve probabilidade limítrofe.

Na avaliação da relação da incidência de resíduos antimicrobianos no leite com contagem de células somáticas observou-se um maior número de amostras positivas (37,8%) em relação às negativas (26,1%) no intervalo de CCS ($\times 1000 \text{cél./mL}$) entre 501 a 1000 cél./mL .

O expressivo índice de amostras positivas e o alto percentual de propriedades que apresentaram positividade no período estudado, bem como a existência de falhas no controle do uso de antimicrobianos no nível das propriedades, propiciam a ocorrência de resíduos de substâncias inibidoras de crescimento bacteriano no produto final ao consumidor, podendo trazer graves consequências à saúde pública.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA – ANVISA. **Grupo de trabalho sobre resíduos de medicamentos veterinários em alimentos**. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/alimentos/alimentos/comissoes/residuos/htm>> Acesso em: 24 set. 2001.

ALBUQUERQUE, L. M. B.; MELO, V. M. M.; MARTINS, S.C.S. Investigações sobre a presença de resíduos de antibióticos em leite comercializados em Fortaleza - CE - Brasil. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.10, n.41, p. 26-32, jan./fev. 1996.

ALVIM, T. C.; BRANDÃO, S. C. C. Descarte de leite contaminado com antibióticos. **Indústria de Laticínios**, São Paulo, n. 32, p.45 – 49, mar./abr. 2001.

ANDREW, S. M. et al. Evaluation of selected antibiotic residue screening tests for milk from individual cows and examination of factors that affect the probability of false-positive outcomes. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 80, n.11, p. 3050-3057, 1997.

ANGULO, F. G.; TAUXE, R. V.; COHEN, M. L. The origins and consequences of antimicrobial-resistant nontyphoidal salmonella: implications for use of fluoroquinolones in food animals. In: ANNUAL MEETING NATIONAL MASTITIS COUNCIL, 38. 1999, Arlington, **Proceedings...** Madison: National Mastitis Council, 1999. p. 16-30.

AURVALLE, A. E. Presença de antibióticos no leite. **A Hora Veterinária**, Porto Alegre, v. 1, n. 3, p.20-27, ago./set. 1981.

BENTLEY INSTRUMENTS, INC. **Bentley 2000**. Operator's manual. Minesota, 1994.

BLOCK, E. Nutrição de vacas leiteiras e composição do leite. In: II Simpósio Internacional sobre Qualidade do Leite. 08-11 de novembro de 2000, Curitiba-PR. **Anais...** Curitiba : UFPR, 2000. p. 85-88.

BLOOD, D. C.; RADOSTITS, O. M. **Clínica Veterinária**. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991. 1263 p.

BOOTH, N. H.; McDONALD, L. E. **Farmacologia e terapêutica em veterinária**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992. 997 p.

BRAMLEY, A. J. et al. **Current concepts of bovine mastitis**. 4. ed. Madison: National Mastitis Council, 1996. 64 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Portaria n. 448, de 10 de setembro de 1998. Proibição de cloranfenicol, furazolidona e nitrofurazona em animais cujos produtos sejam destinados à alimentação humana. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, BRASÍLIA.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Portaria n. 56, de 07 de dezembro de 1999. Produção, Identidade e Qualidade dos leites tipo A,B,C, Leite Cru Resfriado, Leite Pasteurizado, Leite de cabra e Coleta do Leite Cru Resfriado e seu Transporte a Granel. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, BRASÍLIA: n. 234. p. 33-45, 8 dez. 1999a. Seção 1.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Instrução Normativa n. 42, de 20 de dezembro de 1999. Plano Nacional de Controle de Resíduos em Produtos de Origem Animal. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, BRASÍLIA: n. 244. p. 213-227, 22 dez. 1999b. Seção 1.

BRITO, J. R. F.; DIAS, J.C. **A qualidade do leite**. Juiz de Fora, EMBRAPA. São Paulo: TORTUGA, 1998. 88 p.

BRITO, J. R. F. et al. Sensibilidade e especificidade do "Califórnia Mastitis Test" como recurso diagnóstico da mastite subclínica em relação à contagem de células somáticas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 17, n. 2, p. 49-53, abr./jun. 1997.

BRITO, M. A. V. P. Resíduos de Antibióticos no leite. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**. Juiz de Fora: v. 48, n. 288, p. 65-71, out./dez. 1993.

BRITO, M. A. V. P. **Resíduos de antimicrobianos no leite**. (Circular técnica, n. 60). Juiz de Fora: EMBRAPA, 2000. 28 p.

CÂNDIDO, L. M.; CAMPOS, A. M. **Alimentos para fins especiais: dietéticos**. São Paulo: Varela, 1995. 423 p.

CARRARO, C. N. M. **Resíduos de antibióticos no leite provenientes de quartos tratados e não-tratados de vacas leiteiras utilizando métodos de inibição microbiana e enzimático**. Curitiba, 1999. 89 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Setor de Tecnologia Química, Universidade Federal do Paraná.

CARRARO, C. N. M.; VEIGA, D. R. Avaliação do desempenho de três métodos utilizados para detecção de resíduos de antibióticos no leite. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**. Juiz de Fora, v. 55, n. 315, p. 77-79, jul./ago. 2000.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL & PREVENTION. **EPI-INFO**: a word processing, database and statistics program for public health. Geneva: World Health Organization, 1997. Versão 6.04b. 1 disquete 3 1/2.

CHAMBERS, H. F.; SANDE, M. A. Fármacos antimicrobianos: considerações gerais. In: **AS BASES farmacológicas da terapêutica**. 9. ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 1996. p. 757-775.

COCHRAN, W. G. Técnicas de amostragem. **Editora Fundo de Cultura**, Rio de Janeiro, 1965. 555 p.

CODEX ALIMENTARIUS. **Informe de la segunda reunión del comité del Codex sobre la leche y productos lacteos**. Roma: 27 – 31 de Mayo, 1996.

CODEX ALIMENTARIUS. **Informe de la undécima reunión del comité del Codex sobre residuos de medicamentos veterinários en los alimentos**. Washington, D.C. 15-18 de septiembre , 1999.

CONSELHO ESTADUAL DE SANIDADE AGROPECUÁRIA - CONESA. **Programa paranaense de qualidade do leite**. Curitiba, 2000.

CULLOR , J. S. Milk antibiotic residue tests and veterinary practice. **The Compendium Food Animal** (Continuing education article 7), v. 17, n. 6, p. 863-870, june, 1995.

CULLOR, J. S. et al. Distúrbios das glândulas mamarias. In: SMITH, B. P. **Tratado de medicina interna de grandes animais**. São Paulo: Manole: 1993. p. 1041-1060.

CULLOR, J. S. et al. Performance of various testes used to screen antibiotic residues in milk samples from individual animals. **Journal of AOAC International**, v. 77, n. 4, p. 862-870, 1994.

DICIONÁRIO BRASILEIRO DE MEDICAMENTOS VETERINÁRIOS. **Compêndio veterinário**. 30. ed. São Paulo: Andrei, 1999.

DUBOIS, R. Pesticidas, antibióticos e a intoxicação humana. **A Hora Veterinária**, Porto Alegre, a. 12, n. 72, mar./abr., 1993.

DÜRR, J. W. Preservação do leite cru nas propriedades, contagem microbiana, contagem de células somáticas e qualidade do leite. In: **SIMPÓSIO SOBRE SUSTENTABILIDADE DA PECUÁRIA DE LEITE NO BRASIL**, 2. 2000, Juiz de Fora. **Anais...** Juiz de Fora: Embrapa, 2000. p.29-56.

ELSASSER, T. H. Key conclusions of the NRC study on the benefits and risks of the use of drugs in food animals. In: **A CERES forum antibiotic use in animals: food safety & risk assessment**, 1999, Washington, DC. **Conference proceedings**. Washington, DC, Georgetown University, 1999. p. 11-12.

ERSKINE, R. Why do antibiotic residues in milk happen. Dept Of Large Animal **Clinical Sciences**, v.13. Disponível em: <<http://www.cansur.msu.edu/dept/ans/home/dairy/extension>> Acesso em: 24 jan. 2000.

FAGUNDES, C. M. **Inibidores e controle de qualidade do leite**. Pelotas: Universitária/UFPel., 1997. 115 p.

FAO. **Codex Alimentarius**: resíduos de medicamentos veterinários en los alimentos. 2. ed. Roma, 1993. v. 3.

FAO/OMS. **Qué es el codex Alimentarius**. Roma, 1999.

FAO/WHO. **Residues of some veterinary drugs in animals and foods**. (Fao food and nutrition paper, 41/12). Rome, 2000.

FAO/WHO. **Sumary of evaluations performed by the joint FAO/WHO Expert Comittee on Food Additives - first through fifty – seventh meetings, internet edition**. Published 2001 by the ILSI Press International Life Sciences Institute. Disponível em : <<http://www.jecfa.ilsa.org/search.cfm>> Acesso em: 05 dez. 2001.

FARINA, E. M. M. Q. Cadeia produtiva do leite: situação atual e perspectivas do mercado. In: **SIMPÓSIO INTERNACIONAL O FUTURO DOS SISTEMAS DE PRODUÇÃO DE LEITE NO BRASIL**, 1995, Juiz de Fora. **Anais...** Juiz de Fora: EMBRAPA-CNPGL, 1995. p. 1-27.

FERNÍCOLA, N. G. G.; JAUGE, P. **Nociones básicas de toxicología**. México, Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud/OPAS/OMS, 1985.

FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M. V. **Qualidade do leite e controle de mastite**. São Paulo: Lemos editorial, 2000. 175 p.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION - FDA. **Evaluation and use of milk antimicrobial drug screening tests**. Center for Veterinary Medicine On-Line library. Jan., 1997.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION – FDA. **Extralabel drug use in animals: final rule**. Anduca federal register notice. Disponível em : <<http://www.wais.access.gpo.gov>> Acesso em: 05 set. 2001.

FRANÇA.COMUNIDADES EUROPEAS. Regulamento (CE) n.º 508, de 09 de marzo de 1999. Establece fijación de los límites máximos de residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos de origen animal . **Diário oficial de las Comunidades Europeas**, Bruxelas, p. 16-52, 09 mar. 1999.

GALLINA, D. A. et al. Resíduos Inibidores no leite de vacas tratadas com antibióticos. **Indústria de Laticínios**. São Paulo, n. 15, p. 70 – 79, jun., 1998.

GELLI, D. S.; JAKABI, M.; SOUZA, A. Inibidores bacterianos em leite pasteurizado do comércio da cidade de São Paulo. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 44, n. 1, p. 19-24. 1984.

GELLI, D. S. et al. Inibidores microbianos avaliados pelo Delvotest no leite para consumo no estado de São Paulo. **Boletim do CEPPA**, Curitiba, v. 9, n. 2, p. 122-127, jul./dez. 1991.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. Higiene do leite: aspectos gerais das mastites. **Higiene alimentar**, São Paulo, v. 9, n. 36, p. 12-16, 1995.

GLANTZ, S. A. **Primer of biostatistics**. 4. ed. New York: McGraw Hill, 1997. 473 p.

GODKIN, A. Qualidade de leite ao redor do mundo: o papel da CCS. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE QUALIDADE DO LEITE, 2., 2000, Curitiba. **Anais...** Curitiba : UFPR, 2000. p. 09-16.

HARDING, F. **Milk Quality**. Surrey: Blackie Academic & Professional; 1995. 166 p.

HARMON, R. J. Fatores que afetam as contagens de células somáticas. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE QUALIDADE DO LEITE, 1. 1998, Curitiba. **Anais...** Curitiba: UFPR, 1998. p. 07-15.

HARVEY, R. A.; CHAMPE, P. C. **Farmacologia ilustrada**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 1998.

HEESCHEN, W. H. integrated detection system for antimicrobials in milk: the IDF approach. **Newsletters of the International Dairy Federation**, Brussels. n. 144, p. 03-06, 1996.

HILLERTON, J. E. et al. Detection of antimicrobial substances in individual cow and quarter milk samples using Delvotest microbial inhibitor tests. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 88, n. 4, p. 704-711, 1998.

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. **Monograph on residues and contaminants in milk and milk products**. Brussels: IDF, 1997. (Special issue 9701).

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. **Progress in mastitis control (1977) in 23 countries**. Brussels. IDF, 1980. (Document 121).

KAPUSNIK-UNER, J. E.; SANDE, M. A., CHAMBERS, H. F. Tetraciclina, cloranfenicol, eritromicina e outros fármacos antibacterianos. In: : AS BASES farmacológicas da terapêutica. 9. ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 1996. p. 826 - 848.

LARANJA, L. F. Qualidade do leite e sua relação com equipamentos de ordenha e sistema de refrigeração. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE QUALIDADE DO LEITE. 1., 1998, Curitiba. **Anais...** Curitiba: UFPR, 1998. p. 54 – 56.

LATHERS, C. M. Role of veterinary medicine in public health: antibiotic use in food animals and humans and the effect on evolution of antibacterial resistance. **Journal of Clinical Pharmacology**, Hagerstown, v. 41, p. 595-599, 2001.

LUQUET, F. M. **Leche y productos lácteos- vaca-oveya-cabra**. Zaragoza: Acribia, 1991. v. 1.

MACHADO, P. F.; PEREIRA, A. R.; SARRÍES G. A. Composição do leite de tanques de rebanhos brasileiros distribuídos segundo sua contagem de células somáticas. **Revista Brasileira de Zootecnia**. Viçosa, n. 29, p. 1883-1886, 2000.

MAGALHÃES, N. A. et al. Avaliação da sensibilidade de quatro microorganismos na detecção de resíduos de inibidores bacterianos em leite pasteurizado tipos A, B, C e "integral / fazenda" comercializados na grande Belo Horizonte. **Revista Brasileira de Análise de Alimentos**, v. 2, p. 14-20, jan./jun., 1996.

MAGALHÃES, N. A. et al. Ocorrência de resíduos de inibidores bacterianos em leite pasteurizado tipos A, B, C, e "Integral/Fazenda" comercializados na grande Belo Horizonte. **Revista Brasileira de Análise de Alimentos**, v. 1, p. 73-82, jul./dez., 1995.

MANDELL, G. L.; PETRI Jr, W. A. Penicilinas, cefalosporinas e outros antibióticos β -lactâmicos. In: : AS BASES farmacológicas da terapêutica. 9. ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 1996. p. 780-811.

MARTEL, J.-L. et al. New trends in regulatory rules and surveillance of antimicrobial resistance in bacteria of animal origin. **Veterinary Research**, Paris, v. 32, p.381-892, 2001.

McEWEN, S.A.; BLACK, W.D.; MEEK, A.H. Antibiotic residues (bacterial inhibitory substances) in the milk of cows treated under label and extra-label conditions. *Canadian Veterinary Journal*, Ottawa, v. 53, n. 8, p. 527-534, 1992.

MEIRELES, A. J. Qualidade total na cadeia láctea. **Anuário Milkbuzz de profissionais para profissionais**, São Paulo, p. 42-51, 2000.

MENDONÇA, J. S. de. Mecanismos de resistência bacteriana e suas implicações. In: RODRIGUES, E. A. C. et al. **Infecções hospitalares: prevenção e controle**. São Paulo: Sarvier, 1997.

MERCOSUL / GRUPO MERCADO COMUM - GMC. Resolução n.º 54, de 29 de setembro de 2000. Regulamento técnico MERCOSUL de metodologias analíticas, ingestão Diária Aceitável e Limites Máximos de resíduos para medicamentos veterinários em alimentos de origem Animal. BRASILIA: XXXIX GMC.

MERIN, U.; ROSENTHAL, I. The effect of residues of detergents and detergents-sanitizers on the performance of antimicrobial test and the organoleptic quality of milk. **Le Lait**, Paris, v. 65, n. 649-650, p. 163-167, 1985.

MILKPOINT. **Tendência da produção de leite no Paraná**. Disponível em: <<http://www.milkpoint.com.br/giro/detalhe.asp>> Acesso em: 05 jul. 2000.

MITCHELL, J. M. et al. Antimicrobial drug residues in milk and meat: causes, concerns, prevalence, regulations, tests, and test performance. **Journal of Food Protection**, Michigan, v. 61, n. 6, p. 742-756, 1998.

MONARDES, H. Programa de pagamento de leite por qualidade em Québec, Canadá. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE QUALIDADE DO LEITE, 1., 1998, Curitiba. **Anais...** Curitiba: UFPR, 1998. p. 40-43.

NATZKE, R. P. Elements of mastitis control. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 64, p. 1431-1442, 1981.

NMC. Antibiotic Residue violations associated with elevated BTSCC. **National Mastitis Council Newsletter**, Madison, v. 22, n. 4, p. 1-2, Aug. – Sept., 1999.

OLIVEIRA, A. A; CARNEIRO, A. L. HACCP aplicado a produção de leite. **Revista do Insituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 55, n. 315, p. 139-148, jul./ago. 2000.

OLIVER, S. P.; MAKI, J. L.; DOWLEN, H. H. Antibiotic residues in milk following antimicrobial therapy during lactation. **Journal of Food Protection**, Michigan, v. 53, p. 693-696, 1990.

OMS alerta que infecções resistentes estão em crescimento no mundo. **O Globo**, São Paulo, 13 jun. 2000.

OSTRENSKY, A. **Efeitos de ambiente sobre a contagem de células somáticas no leite de vacas da raça holandesa no Paraná**. Curitiba, 1999. 114 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.

OTT, S. L.; NOVAK, P. R. Association of herd productivity and bulk- tank somatic cell counts in US dairy herds in 1996. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Shaumburg, v. 218, n. 8, p. 1325-1330, Apr., 2001.

PALERMO NETO, J. Resíduos de antimicrobianos em alimentos. **Revista do Conselho Federal de Medicina Veterinária**, Brasília, n. 22, p. 65-71, jan./abr. 2001.

PARANÁ. Secretaria do Estado da Agricultura e do Abastecimento. DERAL. **Bovinocultura de leite: prognóstico 2000**. Curitiba, 2000a.

PARANÁ. Secretaria do Estado da Agricultura e do Abastecimento. DERAL. **Caracterização da bovinocultura de leite no estado do Paraná**. Curitiba: 2000b.

PARANÁ. Secretaria do Estado da Saúde. CSA. **Relatório das investigações de surtos de doenças transmitidas por alimentos no estado do Paraná**. Curitiba: 2001.

PELAYO, J. S. et al. Detecção de resíduos antimicrobianos no leite cru e pasteurizado tipo “C”, comercializado na região de Londrina-Paraná, Brasil. **Semina**, Londrina, v. 11, n. 2, p. 89-91, 1991.

PHILPOT, W. N. Importância da contagem de células somáticas e outros fatores que afetam a qualidade do leite. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE QUALIDADE DO LEITE, 1., 1998, Curitiba. **Anais...** Curitiba: UFPR, 1998. p. 28-35.

PIO, M. T. G. **Entrevista concedida pela responsável técnica pelo Programa de Controle de Resíduos em Carnes do Serviço de Controle de Resíduos / Divisão de Controle de Comércio Internacional / Departamento de Inspeção e Controle de Produtos de Origem Animal / Secretaria de Defesa Agropecuária - SRC/DCI/DIPOA.** Brasília, 28 set. 2001.

REYBROECK, W. Determination of ceftiofur in milk after intramuscular of Excenel to lactating cows. In: **WORLD CONGRESS ON FOOD HYGIENE**, 1997, The Hague. **Proceedings...**, NL, 1997. p. 94.

REYBROECK, W. Sensitivity and selectivity of screening tests for the detection of antimicrobial residues in milk. In: **SYMPOSIUM ON RESIDUES OF ANTIMICROBIAL DRUGS AND OTHER INHIBITORS IN MILK**, 1995, Kiel. **Proceedings...** Brussels: IDF, 1995. p. 216-218.

RHODA, D. Hand mastitis records in veterinary practice. In: **NATIONAL MASTITIS COUNCIL ANNUAL MEETING PROCEEDINGS**, 39. 2000, Atlanta. **Proceedings.** Madisson: NMC, 2000. p. 63-67.

SAKATE et al. Elaboração e planejamento do sistema HACCP para estábulo leiteiro. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 3, n.65, p. 30-36, 1999.

SANTOS, E. C. Presença de inibidores no leite fresco e suas conseqüências. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 40, n. 240, p. 03-14, jul./ago., 1985.

SANTOS, M. V. dos. Causas da presença de resíduos de antibióticos no leite. Disponível em: <<http://www.milkpoint.com.br/seções/qualiord/dica.asp>> Acesso em: 28 ago. 2000.

SARGEANT, J. M.; SCHUKKEN, Y. H.; LESLIE, K. E. Ontario bulk milk somatic cell count reduction program: progress and outlook. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 81, n. 6, p. 1545-1554, 1998.

SAVILLE, J. A.; WITTUM, T. E.; SMITH, K. L. Association between measures of milk quality and risk of violative antimicrobial residues in grade-A raw milk. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Shaumburg, v. 217, n. 4, p. 541-545, Aug., 2000.

SCHÄELLIBAUM, M. Efeitos de altas contagens de células somáticas sobre a produção e qualidade de queijos. In: **SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE QUALIDADE DO LEITE**, 2. 2000, Curitiba. **Anais...** Curitiba : UFPR, 2000a. p. 21-26.

SCHÄELLIBAUM, M. Resíduos de antibióticos no leite. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE QUALIDADE DO LEITE, 2. 2000, Curitiba. **Anais...** Curitiba : UFPR, 2000b. p. 89-94.

SCHWARZ, S; CHASLUS-DANCLA, E. Use of antimicrobials in veterinary medicine and mechanisms of resistance. **EDP Sciences**. Related Articles, Books. v. 32, Celle, Germany , p. 201-225, 2001.

SEYMOUR, E. H.; JONES, G. M; MCGILLIARD. M. L. **Persistence of residues in milk following antibiotic treatment of dairy cattle**. **Journal of Dairy Science**, v. 71, n.8, p. 2292-2296, 1988.

SINDICATO NACIONAL DA INDÚSTRIA DE PRODUTOS PARA A SAÚDE ANIMAL - SINDAN. **Manual de Produtos Veterinários**. 2. ed. São Paulo: Varela, 1999.

SISCHO, W. M. Field trial of four cowside antibiotic – residue screening tests. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 202, n. 08, p. 1249-1254, apr. 15, 1993.

SMITH, K. L. Standards for somatic cells in milk: physiological and regulatory. **Newsletters of the International Dairy federation**, Brussels. n. 144, p. 07-08, 1996.

SNYDER, I. S.; FINCH, R. G. Introdução à quimioterapia. In: CRAIG, C. R.; STITZEL, R. E. **Farmacologia moderna**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. p. 482-486.

SOUZA, N. G. **Ocorrência de resíduos de antibióticos no leite de consumo no estado de Santa Catarina**. Florianópolis, 1998. 55 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina.

SOUZA, N. G.; BENEDET, H. B. Ocorrência de resíduos de antibióticos no leite de consumo no estado de Santa Catarina, Brasil. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 55, n. 315, p. 156-162, jul./ago. 2000.

TAMINE, A. Y.; ROBINSON, R. K. **Yogur. ciencia y tecnologia**. Zaragoza: Editorial Acribia, 1991, 365 p.

TAVARES, W. **Manual de antibióticos e quimioterápicos antiinfeciosos**. 2 ed. São Paulo: Atheneu, 1996.

THOMPSON, S. R. FDA'S perspective on antimicrobial resistance. In: ANNUAL MEETING NATIONAL MASTITIS COUNCIL, 38. 1999, Arlington, **Proceedings...** Madison: National Mastitis Council, 1999. p. 14-15.

VARNAM, A.H.; SUTHERLAND, J.P. **Leche y productos lácteos: tecnología, química x microbiología.** Zaragoza: Acribia, 1995, 476 p.

VEISSEYRE, R. **Lactología técnica.** Zaragoza: Editorial Acribia, 1988. 621p.

WALKER, R. D. Antibiotic Resistance and antibiotic susceptibility: how do we define them. In: ANNUAL MEETING NATIONAL MASTITIS COUNCIL, 38. 1999, Arlington, **Proceedings...** Madison: National Mastitis Council, 1999. p. 4-8.

WEAVER, L. D. Antibiotic residues in milk and meat: perceptions and realities. In: Symposium on antibiotic residues. **Veterinary Medicine**, Lenexa, v. 87, n. 12, p. 1222-1228, 1992.

WEIMER, B. Can antibiotic test kits be useful?. Utah State University. **Collection Milking Management**, 1993. Disponível em: <http://www.inform.umd.edu/EdRe.../CAN_ANTIBIOTIC_TEST_KITS_BE_USEFUL.htm> Acesso em: 23 maio 2000.

WHITE, D. G. Use and misuse of antimicrobial in veterinary medicine. In: NATIONAL MASTITIS COUNCIL ANN. MEET. 38., 1999, Arlington, Virginia. **Proceedings...** Madison: Nat. Mast. Council, 1999. p. 9-13.

ZECCONI, A. Somatic cells and their significance for milk processing (tecnology). **Newslettrs of the international Dairy federation**, Brussels. n. 144, p. 11-14, 1996.

APÊNDICES

APÊNDICE 1 - QUESTIONÁRIO DE AVALIAÇÃO DO USO DE ANTIMICRO- BIANOS EM PROPRIEDADES LEITEIRAS	89
APÊNDICE 2 - BANCO DE DADOS	92
APÊNDICE 3 - LISTA DE MEDICAMENTOS UTILIZADOS PELOS PRODU- TORES	100
APÊNDICE 4 - RESULTADOS ESTATÍSTICOS	104
APÊNDICE 5 - RESULTADOS ENTREGUES AO PRODUTOR	113

APÊNDICE 1 - QUESTIONÁRIO DE AVALIAÇÃO DO USO DE ANTIMICROBIANOS EM PROPRIEDADES LEITEIRAS

(Marcar nos quadros S= SIM, N= NÃO, NO= NÃO OBSERVADO).

A - DADOS DE IDENTIFICAÇÃO		Produtor nº:
Proprietário: _____		
Responsável: _____		
Veterinário: _____		
Endereço: _____		
Bairro: _____	Município: _____	Nº de ident. No SCL/APCBRH: _____
Referência: _____		
Telefone: (____) _____ e-mail ou fax: _____		
B - CARACTERIZAÇÃO DA PRODUÇÃO		Produtor nº:
Nº de vacas: _____ Em lactação: _____ Nº anim./Raça: Holandesa: _____ Jersey: _____		
Volume médio/ leite/dia: _____ Volume médio/leite/vaca/dia: _____ Girholanda: _____ Mestiça: _____		
Horários de coleta do leite: _____ Frequência de coleta: _____		
C - CONTROLE SANITÁRIO DE DOENÇAS		
Assistência Veterinária: <input type="checkbox"/> permanente; <input type="checkbox"/> ocasional; <input type="checkbox"/> não há assistência veterinária. <input type="checkbox"/> realiza		
exames de brucelose; <input type="checkbox"/> exames de tuberculose; periodicidade: _____		
<input type="checkbox"/> realiza vacinação de brucelose; realiza exame(s) de mastite; quais? _____		
_____ periodicidade: <input type="checkbox"/> semanal, <input type="checkbox"/> quinzenal, <input type="checkbox"/> mensal, <input type="checkbox"/> ocasional.		
<input type="checkbox"/> CCS, periodicidade: _____		
resultados: _____		

Observações: _____		

D - PROCEDIMENTOS COM VACAS EM TRATAMENTO		
<input type="checkbox"/> identifica animais em tratamento, procedimento: _____ <input type="checkbox"/> registro escrito dos animais em tratamento,		
registra: <input type="checkbox"/> identificação do quarto tratado, <input type="checkbox"/> tratamento utilizado, <input type="checkbox"/> tempo de tratamento, <input type="checkbox"/> data início trat., <input type="checkbox"/> data		
fim trat., <input type="checkbox"/> tempo de carência, <input type="checkbox"/> teste de resíduos, quais: _____ <input type="checkbox"/> outros		
dados: _____		
<input type="checkbox"/> realiza tratamento de vacas secas, procedimentos: <input type="checkbox"/> superior ou igual 60 dias antes parto, <input type="checkbox"/> inferior 60 dias.		
<input type="checkbox"/> não realiza tratamento de vacas secas rotineiramente.		

Procedimentos e freqüência na desinfecção de equipamentos:

Utensílios, produtos: ☐ a cada uso, ☐ uma vez ao dia, ☐ outra frequência:

☐ Limpeza de equipamentos CIP. ☐ segue instruções do fabricante.

☐ Possui registro escrito dos procedimentos de desinfecção.

Observações: _____

[illegible]

Observações	
-------------	--

F- VERIFICAÇÃO DOS FATORES DE RISCO ASSOCIADOS A PRESENÇA DE RESÍDUOS DE ANTIMICROBIANOS EM LEITE NA PROPRIEDADE

☐descarte do leite apenas do quarto tratado; ☐vacas com parto antecipado e curto período seco; ☐uso de produtos de vacas secas para tratamento de vacas em lactação; ☐ordenha acidental de vacas secas em terapia; ☐não observa a ordem de ordenha(vacas tratadas); ☐erro durante a ordenha e mistura do leite com e sem resíduos; ☐não

observação do período de carência do medicamento; ☐ erro na identificação dos animais tratados; ☐ erro na anotação dos dados do tratamento; ☐ uso de drogas em diferentes dosagens; ☐ uso de medicamentos sem bula; ☐ diferentes esquemas de tratamento para o qual o período de carência foi estabelecido; ☐ equipamentos de ordenha com limpeza insuficiente; ☐ outros fatores causais, quais: _____

Data de preenchimento: _____ Responsável pelo preenchimento: _____

EXAMES DE CCS E DETECÇÃO DE ANTIMICROBIANOS

Data de colheita de amostras	Resultados

APÊNDICE 2 - BANCO DE DADOS

APÊNDICE 2A - BANCO DE DADOS - AVALIAÇÃO DOS PRODUTORES DE LEITE DA REGIÃO METROPOLITANA DE CURITIBA

Nº	Produ- tor	Re- gião	Nº de Vacas	Raça Pre- dominante	Volume Médio		Assistência Veterinária	Procedimen- to Ordenha	Leite		Animal-Tratamento		Tratamento Vaca Seca	Mastite		Uso de Me- dicamentos	Dose Utilizada	Carência Utilizada	Inci- dência
					Produção	Por Vaca			Destino	Descarte	Identifica	Registra		Exame	Frequência				
1	14	1	1	18	Holandesa	160	11,4	Ocasional	Não Separa	Animais	Sim	Não	Não	Não	Sem Frequência	Não	Não	Não	2
2	23	1	1	22	Holandesa	108	6,8	Ocasional	Separa	Animais	Não	Não	Não	Ocasional	Sim	Semanal / Quinzenal	Autorizada	Super Dosagem	Respeitou
3	28	1	1	15	Holandesa	150	15,0	Ocasional	Separa	Animais	Não	Não	Não	Ocasional	Sim	Ocasional	Não	Não	4
4	38	1	1	18	Holandesa	180	12,9	Ocasional	Separa	Animais	Não	Não	Sim	Sim	Sim	Ocasional	Autorizada	Super Dosagem	Respeitou
5	41	1	1	21	Holandesa	190	11,9	Ocasional	Separa	Animais	Não	Não	Não	Sim	Sim	Semanal / Quinzenal	Não	Não	2
6	43	1	1	15	Holandesa	200	14,3	Ocasional	Separa	Animais	Sim	Não	Não	Sim	Sim	Semanal / Quinzenal	Autorizada	De Acordo	Respeitou
7	74	1	2	11	Holandesa	100	11,1	Ocasional	Não Separa	Animais	Sim	Não	Não	Não	Não	Sem Frequência	Autorizada	De Acordo	Não Respeitou
8	75	1	2	10	Holandesa	70	10,0	Ocasional	Não Separa	Animais	Sim	Não	Não	Não	Sim	Ocasional	Autorizada	Não	Respeitou
9	76	1	2	13	Holandesa	110	12,2	Ocasional	Separa	Animais	Não	Não	Não	Não	Sim	Semanal / Quinzenal	Proibida	Super Dosagem	Não Respeitou
10	77	1	2	21	Holandesa	200	12,5	Ocasional	Separa	Animais	Sim	Não	Não	Não	Não	Sem Frequência	Proibida	Super Dosagem	Não Respeitou
11	78	1	2	16	Jersey	150	9,4	Ocasional	Não Separa	Animais	Sim	Não	Não	Não	Não	Sem Frequência	Autorizada	Super Dosagem	Respeitou
12	81	1	2	24	Holandesa	110	12,2	Ocasional	Não Separa	Animais	Sim	Não	Não	Não	Sim	Semanal / Quinzenal	Autorizada	Super Dosagem	Não Respeitou
13	83	1	2	20	Holandesa	190	12,7	Ocasional	Separa	Animais	Sim	Não	Não	Sim	Sim	Semanal / Quinzenal	Autorizada	Super Dosagem	Não
14	104	1	2	11	Jersey	70	7,8	Ocasional	Separa	Animais	Não	Não	Não	Sim	Sim	Semanal / Quinzenal	Autorizada	Super Dosagem	Respeitou
15	105	1	2	12	Holandesa	90	11,2	Ocasional	Separa	Animais	Não	Não	Sim	Sim	Sim	Semanal / Quinzenal	Autorizada	Super Dosagem	Respeitou
16	106	1	2	18	Holandesa	140	10,0	Ocasional	Separa	Animais	Não	Não	Não	Ocasional	Não	Sem Frequência	Autorizada	Super Dosagem	Não Respeitou
17	107	1	2	10	Holandesa	80	11,4	Ocasional	Separa	Animais	Sim	Não	Não	Não	Sim	Ocasional	Autorizada	Super Dosagem	Respeitou
18	108	1	2	9	Mestiça	100	12,5	Ocasional	Separa	Animais	Não	Não	Não	Não	Sim	Ocasional	Não	Não	1
19	109	1	2	12	Holandesa	140	11,7	Ocasional	Separa	Descarte	Não	Sim	Sim	Sim	Sim	Semanal / Quinzenal	Autorizada	Não	Não
20	111	1	2	5	Holandesa	41	10,2	Ocasional	Separa	Animais	Sim	Não	Não	Não	Sim	Semanal / Quinzenal	Não	Não	4
21	112	1	2	24	Holandesa	110	7,3	Ocasional	Separa	Animais	Sim	Não	Não	Sim	Sim	Ocasional	Autorizada	Super Dosagem	Não Respeitou
22	113	1	2	9	Holandesa	85	10,6	Ocasional	Separa	Descarte	Não	Não	Não	Não	Sim	Semanal / Quinzenal	Autorizada	De Acordo	Não Respeitou
23	115	1	2	11	Holandesa	100	12,5	Ocasional	Separa	Descarte	Não	Não	Sim	Sim	Sim	Semanal / Quinzenal	Não	Não	1
24	116	1	2	12	Holandesa	160	16,0	Ocasional	Separa	Animais	Não	Não	Sim	Ocasional	Sim	Semanal / Quinzenal	Não	Não	1
25	119	1	2	20	Holandesa	200	11,8	Ocasional	Separa	Animais	Não	Não	Não	Sim	Sim	Semanal / Quinzenal	Autorizada	Super Dosagem	Respeitou
26	120	1	2	25	Holandesa	120	10,0	Ocasional	Separa	Animais	Sim	Não	Sim	Sim	Sim	Semanal / Quinzenal	Proibida	Super Dosagem	Não Respeitou
27	122	1	2	29	Holandesa	200	11,8	Ocasional	Separa	Descarte	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Semanal / Quinzenal	Proibida	Super Dosagem	Não Respeitou
28	127	1	2	10	Holandesa	100	12,5	Ocasional	Separa	Animais	Sim	Não	Não	Não	Sim	Ocasional	Autorizada	Super Dosagem	Não Respeitou
29	131	1	3	6	Holandesa	20	5,0	Ocasional	Separa	Animais	Não	Não	Não	Não	Não	Sem Frequência	Não	Não	1
30	132	1	3	5	Holandesa	25	8,3	Ocasional	Separa	Animais	Sim	Não	Não	Não	Não	Sem Frequência	Não	Não	4
31	135	1	3	9	Holandesa	70	11,7	Ocasional	Separa	Animais	Sim	Não	Não	Não	Não	Sem Frequência	Não	Não	1
32	7	2	1	17	Holandesa	230	14,4	Ocasional	Separa	Animais	Sim	Não	Não	Não	Sim	Ocasional	Não	Não	2
33	10	2	1	30	Holandesa	350	13,5	Ocasional	Separa	Descarte	Não	Não	Não	Ocasional	Sim	Ocasional	Autorizada	Não	Não
34	22	2	1	18	Holandesa	260	17,3	Ocasional	Separa	Descarte	Não	Não	Não	Não	Sim	Ocasional	Autorizada	Não	Não
35	39	2	1	18	Holandesa	282	17,5	Ocasional	Separa	Animais	Não	Não	Sim	Sim	Sim	Semanal / Quinzenal	Não	Não	2
36	40	2	1	23	Holandesa	260	14,4	Ocasional	Separa	Animais	Não	Sim	Não	Sim	Sim	Ocasional	Autorizada	De Acordo	Respeitou
37	45	2	1	24	Holandesa	270	13,5	Ocasional	Separa	Animais	Não	Não	Não	Sim	Sim	Semanal / Quinzenal	Proibida	Super Dosagem	Não Respeitou
38	48	2	1	17	Holandesa	210	16,1	Ocasional	Separa	Descarte	Sim	Não	Não	Não	Não	Sem Frequência	Não	Não	1
39	54	2	1	18	Holandesa	400	22,0	Ocasional	Separa	Animais	Sim	Não	Não	Ocasional	Sim	Semanal / Quinzenal	Autorizada	De Acordo	Respeitou
40	72	2	3	15	Jersey	240	18,5	Ocasional	Separa	Animais	Não	Não	Não	Sim	Sim	Semanal / Quinzenal	Proibida	Super Dosagem	Não Respeitou

Continua

APÊNDICE 2A - BANCO DE DADOS - AVALIAÇÃO DOS PRODUTORES DE LEITE DA REGIÃO METROPOLITANA DE CURITIBA

Conclusão																				
Nº	Produ- tor	Re- gião	Nº de Vacas	Raça Pre- dominante	Volume Médio		Assistência Veterinária	Procedimen- to Ordenha	Leite		Animal-Tratamento		Tratamento Vaca Seca	Mastite		Uso de Me- dicamentos	Dose Utilizada	Carência Utilizada	Inci- dência	
					Produção	Por Vaca			Destino	Descarte	Identifica	Registra		Exame	Frequência					
41	73	2	2	18	Holandesa	220	18,3	Ocasional	Separa	Animais	Sim	Não	Não	Não	Sem Frequência	Proibida	Super Dosagem	Não Respeitou	4	
42	79	2	2	28	Holandesa	400	16,7	Ocasional	Separa	Animais	Não	Sim	Não	Ocasional	Sim	Ocasional	Proibida	Super Dosagem	Não Respeitou	2
43	80	2	2	42	Holandesa	380	14,6	Ocasional	Separa	Animais	Não	Não	Não	Ocasional	Sim	Semanal / Quinzenal	Proibida	Super Dosagem	Não Respeitou	1
44	82	2	2	45	Holandesa	400	11,4	Ocasional	Não Separa	Descarte	Sim	Não	Não	Ocasional	Sim	Semanal / Quinzenal	Proibida	Super Dosagem	Não Respeitou	2
45	100	2	4	52	Holandesa	375	15,0	Ocasional	Separa	Descarte	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Semanal / Quinzenal	Proibida	Super Dosagem	Não Respeitou	1
46	101	2	4	30	Holandesa	325	14,8	Permanente	Separa	Descarte	Sim	Não	Não	Sim	Sim	Ocasional	Proibida	Super Dosagem	Não Respeitou	1
47	114	2	2	36	Holandesa	350	17,5	Ocasional	Separa	Animais	Não	Não	Não	Ocasional	Sim	Ocasional	Autorizada	Não	Não	1
48	117	2	2	47	Jersey	350	9,2	Ocasional	Separa	Animais	Sim	Não	Sim	Sim	Sim	Semanal / Quinzenal	Autorizada	Super Dosagem	Respeitou	1
49	118	2	2	25	Holandesa	210	13,1	Ocasional	Separa	Animais	Não	Não	Sim	Ocasional	Sim	Semanal / Quinzenal	Autorizada	Super Dosagem	Respeitou	1
50	121	2	2	34	Holandesa	300	10,7	Ocasional	Separa	Animais	Não	Não	Sim	Ocasional	Sim	Ocasional	Proibida	Super Dosagem	Não Respeitou	2
51	125	2	2	21	Holandesa	370	24,7	Ocasional	Separa	Animais	Não	Não	Não	Sim	Sim	Ocasional	Proibida	Super Dosagem	Não Respeitou	2
52	37	3	1	45	Holandesa	550	15,3	Ocasional	Separa	Animais	Não	Não	Não	Sim	Sim	Ocasional	Proibida	Super Dosagem	Não Respeitou	2
53	44	3	1	23	Holandesa	423	18,4	Ocasional	Separa	Animais	Não	Não	Não	Sim	Sim	Ocasional	Proibida	Super Dosagem	Não Respeitou	1
54	49	3	1	25	Holandesa	475	20,6	Ocasional	Separa	Descarte	Não	Não	Não	Sim	Sim	Ocasional	Autorizada	Super Dosagem	Respeitou	3
55	50	3	1	50	Holandesa	650	14,1	Ocasional	Separa	Animais	Não	Não	Sim	Ocasional	Não	Sem Frequência	Proibida	Super Dosagem	Não Respeitou	2
56	51	3	1	48	Holandesa	580	15,7	Ocasional	Separa	Animais	Sim	Não	Não	Ocasional	Sim	Ocasional	Autorizada	Super Dosagem	Não Respeitou	1
57	52	3	1	36	Holandesa	770	23,3	Ocasional	Separa	Animais	Não	Não	Não	Sim	Não	Sem Frequência	Autorizada	De Acordo	Respeitou	4
58	53	3	1	28	Holandesa	450	19,6	Ocasional	Não Separa	Animais	Não	Não	Não	Sim	Não	Sem Frequência	Autorizada	Super Dosagem	Respeitou	4
59	55	3	1	28	Holandesa	420	20,0	Ocasional	Separa	Animais	Não	Não	Não	Sim	Sim	Ocasional	Proibida	Super Dosagem	Não Respeitou	4
60	56	3	1	39	Holandesa	650	21,7	Ocasional	Separa	Animais	Sim	Não	Não	Sim	Sim	Ocasional	Autorizada	Super Dosagem	Respeitou	4
61	57	3	1	34	Holandesa	420	15,5	Ocasional	Separa	Animais	Não	Não	Não	Ocasional	Não	Sem Frequência	Proibida	Super Dosagem	Não Respeitou	1
62	58	3	1	42	Holandesa	650	18,6	Ocasional	Separa	Animais	Não	Não	Não	Sim	Não	Sem Frequência	Autorizada	Super Dosagem	Respeitou	2
63	64	3	1	64	Holandesa	700	15,9	Ocasional	Separa	Animais	Sim	Não	Sim	Sim	Sim	Ocasional	Autorizada	De Acordo	Não Respeitou	1
64	66	3	3	37	Jersey	450	15,0	Ocasional	Separa	Descarte	Não	Não	Não	Ocasional	Sim	Semanal / Quinzenal	Proibida	Super Dosagem	Não Respeitou	3
65	68	3	3	74	Jersey	550	15,7	Ocasional	Separa	Animais	Sim	Não	Sim	Sim	Sim	Semanal / Quinzenal	Proibida	Super Dosagem	Não Respeitou	4
66	69	3	3	78	Holandesa	550	17,7	Ocasional	Separa	Animais	Sim	Não	Não	Ocasional	Sim	Ocasional	Proibida	Super Dosagem	Não Respeitou	2
67	70	3	3	52	Holandesa	700	15,5	Permanente	Separa	Animais	Não	Não	Não	Ocasional	Sim	Semanal / Quinzenal	Autorizada	De Acordo	Respeitou	4
68	71	3	4	110	Jersey	770	11,0	Permanente	Separa	Animais	Sim	Não	Não	Sim	Sim	Ocasional	Autorizada	Super Dosagem	Respeitou	2
69	102	3	2	50	Holandesa	475	13,6	Ocasional	Separa	Animais	Sim	Não	Sim	Não	Sim	Ocasional	Autorizada	Super Dosagem	Não Respeitou	1
70	123	3	2	50	Holandesa	700	17,5	Ocasional	Separa	Animais	Não	Sim	Sim	Sim	Sim	Ocasional	Proibida	Super Dosagem	Não Respeitou	1
71	59	4	1	49	Holandesa	920	23,6	Ocasional	Separa	Animais	Não	Não	Não	Sim	Sim	Ocasional	Autorizada	Super Dosagem	Não Respeitou	1
72	60	4	1	75	Holandesa	850	17,0	Permanente	Separa	Descarte	Não	Sim	Sim	Sim	Sim	Semanal / Quinzenal	Autorizada	Não	Não	4
73	61	4	1	180	Holandesa	2.576	19,8	Permanente	Separa	Animais	Não	Não	Sim	Sim	Sim	Ocasional	Proibida	Super Dosagem	Não Respeitou	2
74	63	4	1	122	Holandesa	2.800	25,4	Permanente	Separa	Animais	Não	Sim	Sim	Sim	Sim	Ocasional	Proibida	Super Dosagem	Não Respeitou	4
75	65	4	3	156	Holandesa	2.800	23,3	Permanente	Separa	Animais	Não	Não	Não	Sim	Sim	Semanal / Quinzenal	Autorizada	Não	Não	1
76	124	4	2	70	Holandesa	1.350	27,0	Permanente	Separa	Animais	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Semanal / Quinzenal	Autorizada	Super Dosagem	Respeitou	4
77	126	4	2	130	Holandesa	2.400	23,5	Permanente	Separa	Descarte	Não	Sim	Sim	Sim	Sim	Ocasional	Proibida	Super Dosagem	Não Respeitou	1
78	129	4	4	57	Jersey	888	17,4	Permanente	Separa	Animais	Não	Sim	Sim	Sim	Sim	Semanal / Quinzenal	Proibida	Super Dosagem	Não Respeitou	1
79	133	4	4	80	Holandesa	1.300	26,0	Permanente	Separa	Animais	Sim	Não	Sim	Sim	Sim	Ocasional	Proibida	Super Dosagem	Não Respeitou	3
80	134	4	4	280	Holandesa	6.000	26,4	Permanente	Separa	Animais	Não	Sim	Sim	Sim	Sim	Semanal / Quinzenal	Proibida	Super Dosagem	Não Respeitou	1

APÊNDICE 2B - BANCO DE DADOS - AVALIAÇÃO DA CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS

Nº	CCS (x 1000)	SUB GRUPO	Nº DA AMOSTRA	Nº DO PRODUTOR	% DE GORDURA	% DE PROTEÍNA	% DE LACTOSE	% SÓLIDOS TOTAIS	ANTIMI- CROBIANO
1	1.783	4	1	14	4,02	3,13	4,27	12,16	P
2	1.370	3	2	14	2,81	3,11	4,21	11,00	P
3	1.592	4	3	14	3,12	2,88	4,25	10,97	N
4	3.102	4	4	14	3,10	3,06	3,92	10,79	N
5	258	1	1	23	3,42	2,91	4,27	11,31	N
6	281	1	2	23	3,65	2,86	4,10	11,43	P
7	451	1	3	23	3,52	3,20	4,29	11,82	N
8	477	1	4	23	3,97	3,38	4,64	12,64	N
9	187	1	1	28	3,01	3,17	4,45	11,40	N
10	152	1	2	28	3,05	3,08	4,35	11,27	N
11	128	1	3	28	3,25	3,03	4,33	11,35	N
12	141	1	4	28	2,90	3,06	4,29	11,05	N
13	188	1	1	38	3,69	3,28	4,66	12,44	N
14	555	2	2	38	4,96	3,13	4,43	13,42	N
15	578	2	3	38	3,85	3,19	4,59	12,36	N
16	547	2	4	38	4,32	3,54	4,56	13,06	N
17	302	1	1	41	3,65	3,14	4,46	12,02	P
18	87	1	2	41	2,37	2,63	4,26	10,10	N
19	280	1	3	41	3,30	2,81	4,15	11,10	P
20	262	1	4	41	5,18	2,77	4,57	13,34	N
21	251	1	1	43	3,37	3,21	4,62	12,01	P
22	207	1	2	43	3,26	3,08	4,46	11,72	N
23	319	1	3	43	3,15	2,98	4,38	11,32	N
24	308	1	4	43	3,30	3,22	4,48	11,59	N
25	1.075	3	1	74	3,71	3,13	4,34	12,00	N
26	437	1	2	74	3,20	3,20	4,42	11,66	N
27	985	2	3	74	3,81	3,31	4,53	12,36	N
28	961	2	4	74	3,55	3,21	4,42	11,86	P
29	853	2	1	75	3,37	3,17	4,21	11,54	N
30	710	2	2	75	3,92	3,34	4,13	12,19	N
31	713	2	3	75	3,27	3,19	4,14	11,18	N
32	377	1	4	75	3,65	3,15	4,28	11,75	N
33	267	1	1	76	4,38	3,20	4,75	13,15	P
34	131	1	2	76	4,63	2,69	4,61	12,76	N
35	146	1	3	76	3,99	2,92	4,78	12,39	N
36	344	1	4	76	3,80	3,20	4,68	12,45	N
37	1.631	4	1	77	2,71	2,73	4,26	10,39	N
38	3.849	4	2	77	2,00	3,04	4,26	10,09	N
39	2.962	4	3	77	3,46	3,01	4,29	11,42	N
40	1.519	4	4	77	3,40	3,21	4,41	11,60	N
41	1.940	4	1	78	3,72	3,34	4,24	12,03	P
42	1.097	3	2	78	3,54	3,30	4,19	11,84	N
43	1.706	4	3	78	3,56	3,50	4,49	12,28	N
44	2.894	4	4	78	4,06	3,89	4,09	12,55	N
45	755	2	1	81	3,26	3,11	4,38	11,57	P
46	1.087	3	2	81	2,97	3,01	4,52	11,14	N
47	478	1	3	81	3,36	2,89	4,44	11,38	N
48	1.877	4	4	81	3,26	3,04	4,48	11,38	N
49	1.866	4	1	83	3,47	3,29	4,49	12,03	N
50	1.426	3	2	83	3,44	3,23	4,37	11,87	N
51	1.322	3	3	83	3,52	3,19	4,56	11,96	N
52	845	2	4	83	3,72	3,15	4,55	12,15	P
53	402	1	1	104	5,68	3,21	4,13	13,71	N
54	163	1	2	104	3,39	3,47	4,37	11,93	N
55	356	1	3	104	3,93	3,16	4,56	12,39	N
56	156	1	4	104	2,00	3,25	4,56	10,55	N
57	422	1	1	105	2,71	3,71	4,58	11,91	N
58	421	1	2	105	2,91	3,82	4,82	12,45	N
59	217	1	3	105	3,20	3,87	4,82	12,79	N
60	25	1	4	105	3,61	3,35	4,94	12,70	P
61	145	1	1	106	3,72	3,30	4,37	12,24	N
62	562	2	2	106	4,05	3,30	4,49	12,58	P
63	88	1	3	106	3,73	3,24	4,67	12,38	N
64	79	1	4	106	3,34	3,31	4,59	11,96	P
65	853	2	1	107	4,11	3,20	4,57	12,62	P
66	471	1	2	107	3,64	3,23	4,66	12,26	N

Continua

APÊNDICE 2B - BANCO DE DADOS - AVALIAÇÃO DA CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS

Nº	CCS	SUB	Nº DA	Nº DO	% DE	% DE	% DE	% SÓLIDOS	ANTIMI- CROBIANO
	(x 1000)	GRUPO	AMOSTRA	PRODUTOR	GORDURA	PROTEÍNA	LACTOSE	TOTAIS	
67	507	2	3	107	4,63	3,27	4,55	13,23	N
68	240	1	4	107	3,40	3,44	4,63	12,28	N
69	294	1	1	108	3,03	3,06	4,34	11,24	N
70	476	1	2	108	3,34	3,12	4,46	11,64	N
71	392	1	3	108	3,39	3,17	4,52	11,75	N
72	588	2	4	108	3,35	3,13	4,38	11,53	P
73	294	1	1	109	3,03	3,06	4,34	11,24	N
74	476	1	2	109	3,34	3,12	4,46	11,64	N
75	392	1	3	109	3,39	3,17	4,52	11,75	N
76	588	2	4	109	3,35	3,13	4,38	11,53	P
77	551	2	1	111	3,74	3,24	4,81	12,71	N
78	572	2	2	111	3,89	3,17	4,93	12,78	N
79	356	1	3	111	3,82	3,23	5,00	12,87	N
80	547	2	4	111	3,99	3,15	4,81	12,75	N
81	579	2	1	112	3,16	2,77	4,02	10,66	N
82	480	1	2	112	3,30	2,86	4,25	11,04	P
83	514	2	3	112	3,26	2,83	4,24	10,87	N
84	614	2	4	112	3,24	2,72	4,18	10,78	P
85	232	1	1	113	3,77	3,21	4,63	12,49	N
86	272	1	2	113	3,76	3,13	4,74	12,39	N
87	250	1	3	113	4,25	3,11	4,72	12,82	N
88	88	1	4	113	3,57	2,97	4,63	11,91	P
89	1.118	3	1	115	3,72	3,55	4,44	12,50	N
90	1.035	3	2	115	3,77	3,53	4,52	12,58	N
91	1.030	3	3	115	4,44	3,32	4,42	12,88	N
92	1.697	4	4	115	4,06	3,51	4,43	12,60	P
93	177	1	1	116	4,09	2,95	4,56	12,28	P
94	295	1	2	116	3,94	3,04	4,56	12,29	N
95	380	1	3	116	5,24	3,18	4,51	13,63	N
96	348	1	4	116	4,30	3,05	4,54	12,68	N
97	248	1	1	119	3,46	3,13	4,33	11,63	N
98	742	2	2	119	3,42	3,20	4,32	11,65	P
99	559	2	3	119	3,57	3,14	4,38	11,78	N
100	856	2	4	119	3,53	3,32	4,23	11,63	N
101	490	1	1	120	3,56	3,01	4,27	11,55	P
102	155	1	2	120	3,48	3,03	4,60	11,83	N
103	161	1	3	120	3,79	3,09	4,55	12,17	N
104	200	1	4	120	3,69	3,54	4,44	12,25	N
105	732	2	1	122	3,72	3,60	4,33	12,43	N
106	504	2	2	122	3,78	3,47	4,40	12,42	N
107	382	1	3	122	4,23	3,57	4,36	12,86	N
108	277	1	4	122	3,63	3,77	4,31	12,24	P
109	794	2	1	127	3,88	3,43	4,50	12,69	N
110	773	2	2	127	3,61	3,31	4,40	12,17	N
111	966	2	3	127	4,01	3,58	4,53	12,73	N
112	803	2	4	127	3,77	3,28	4,41	12,05	P
113	1.278	3	1	131	3,90	3,32	4,24	12,13	P
114	1.150	3	2	131	3,99	3,58	4,28	12,55	N
115	1.137	3	3	131	4,47	3,80	4,23	13,05	N
116	2.358	4	4	131	3,87	3,46	4,21	12,28	N
117	497	1	1	132	3,83	3,16	4,70	12,43	N
118	510	2	2	132	4,36	3,25	4,56	12,89	N
119	404	1	3	132	4,10	3,28	4,44	12,44	N
120	121	1	4	132	4,24	3,25	4,64	12,94	N
121	82	1	1	135	3,98	3,45	5,01	13,32	P
122	129	1	2	135	3,66	3,29	4,72	12,44	N
123	108	1	3	135	4,35	3,54	4,66	13,21	N
124	188	1	4	135	3,89	3,41	4,69	12,82	N
125	97	1	1	7	2,77	2,91	4,50	11,01	P
126	89	1	2	7	3,23	2,86	4,39	11,37	N
127	112	1	3	7	3,37	2,94	4,46	11,52	N
128	133	1	4	7	3,25	3,06	4,32	11,43	P
129	583	2	1	10	3,07	2,80	4,28	10,85	N
130	393	1	2	10	3,12	2,77	4,16	10,88	N
131	1.104	3	3	10	3,20	2,86	4,25	11,02	N

Continua

APÊNDICE 2B - BANCO DE DADOS - AVALIAÇÃO DA CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS

Continuação

Nº	CCS (x 1000)	SUB GRUPO	Nº DA AMOSTRA	Nº DO PRODUTOR	% DE GORDURA	% DE PROTEÍNA	% DE LACTOSE	% SÓLIDOS TOTAIS	ANTIMI- CROBIANO
132	511	2	4	10	3,13	2,85	4,19	10,92	P
133	444	1	1	22	3,01	2,97	4,39	11,11	N
134	1.177	3	2	22	3,21	2,98	4,17	11,20	P
135	945	2	3	22	3,13	2,97	4,32	11,15	N
136	466	1	4	22	3,44	3,18	4,29	11,72	N
137	408	1	1	39	3,16	3,01	4,48	11,40	N
138	782	2	2	39	3,42	2,91	4,29	11,49	P
139	692	2	3	39	3,35	3,02	4,37	11,50	P
140	896	2	4	39	3,37	3,05	4,29	11,51	N
141	251	1	1	40	3,37	3,21	4,62	12,01	P
142	207	1	2	40	3,26	3,08	4,46	11,72	N
143	319	1	3	40	3,15	2,98	4,38	11,32	N
144	308	1	4	40	3,30	3,22	4,48	11,59	N
145	168	1	1	45	3,39	2,89	4,49	11,53	N
146	420	1	2	45	3,41	2,94	4,33	11,55	N
147	372	1	3	45	3,24	3,11	4,42	11,52	N
148	555	2	4	45	3,32	3,16	4,33	11,62	N
149	147	1	1	48	3,13	2,93	4,48	11,30	P
150	167	1	2	48	3,31	2,99	4,42	11,63	N
151	236	1	3	48	3,24	3,26	4,49	11,76	N
152	167	1	4	48	3,21	3,20	4,55	11,82	N
153	54	1	1	54	2,61	3,01	4,31	10,74	N
154	86	1	2	54	3,44	3,01	4,34	11,67	N
155	158	1	3	54	3,47	3,03	4,38	11,62	N
156	134	1	4	54	3,45	3,11	4,32	11,68	N
157	338	1	1	72	4,02	3,52	4,59	12,95	N
158	526	2	2	72	4,29	3,48	4,54	13,10	N
159	713	2	3	72	3,76	3,38	4,73	12,66	N
160	702	2	4	72	3,60	3,61	4,60	12,60	N
161	366	1	1	73	3,55	3,12	4,41	11,82	N
162	1.330	3	2	73	3,25	2,99	4,35	11,32	N
163	848	2	3	73	3,03	3,08	4,39	11,33	N
164	632	2	4	73	3,19	3,05	4,40	11,26	N
165	327	1	1	79	3,32	2,96	4,53	11,57	P
166	498	1	2	79	3,44	2,96	4,37	11,57	N
167	291	1	3	79	3,15	3,15	4,86	11,93	N
168	367	1	4	79	3,53	3,06	4,57	11,88	P
169	325	1	1	80	3,74	3,06	4,53	12,18	N
170	461	1	2	80	3,40	3,13	4,48	11,85	N
171	744	2	3	80	3,39	3,17	4,56	11,82	N
172	900	2	4	80	3,76	3,40	4,47	12,23	P
173	1.018	3	1	82	3,55	3,24	4,51	12,07	P
174	1.484	3	2	82	4,40	3,31	4,50	12,93	N
175	1.062	3	3	82	4,14	3,33	4,48	12,69	N
176	597	2	4	82	3,28	3,54	4,53	11,93	P
177	344	1	1	100	3,33	3,08	4,60	11,87	P
178	525	2	2	100	3,48	3,22	4,65	12,08	N
179	87	1	3	100	3,13	4,51	5,10	13,37	N
180	372	1	4	100	3,25	3,05	4,69	11,76	N
181	555	2	1	101	3,70	3,56	4,27	12,22	P
182	677	2	2	101	4,02	3,71	4,31	12,60	N
183	630	2	3	101	3,78	3,14	4,60	12,16	N
184	558	2	4	101	4,04	3,40	4,26	12,43	N
185	545	2	1	114	3,52	3,25	4,65	12,19	P
186	1.297	3	2	114	4,47	3,52	4,50	13,25	N
187	539	2	3	114	3,49	3,20	4,77	12,21	N
188	348	1	4	114	3,61	3,29	4,77	12,50	N
189	566	2	1	117	4,43	3,64	4,39	13,24	P
190	577	2	2	117	4,58	3,81	4,47	13,71	N
191	376	1	3	117	4,44	3,50	4,43	13,10	N
192	543	2	4	117	4,57	3,88	4,35	13,39	N
193	114	1	1	118	3,46	3,05	4,62	11,91	N
194	111	1	2	118	3,70	3,36	4,74	12,59	N
195	467	1	3	118	3,38	3,21	4,55	11,84	N
196	282	1	4	118	3,53	3,24	4,64	12,04	P

Continua

APÊNDICE 2B - BANCO DE DADOS - AVALIAÇÃO DA CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS

Nº	Continuação								
	CCS (x 1000)	SUB GRUPO	Nº DA AMOSTRA	Nº DO PRODUTOR	% DE GORDURA	% DE PROTEÍNA	% DE LACTOSE	% SÓLIDOS TOTAIS	ANTIMI- CROBIANO
197	334	1	1	121	3,42	2,98	4,37	11,49	P
198	357	1	2	121	3,38	2,97	4,44	11,47	N
199	360	1	3	121	3,75	3,11	4,29	11,82	N
200	446	1	4	121	4,04	3,15	4,39	12,20	P
201	949	2	1	125	3,18	3,19	4,23	11,41	P
202	636	2	2	125	3,13	3,18	4,23	11,33	P
203	426	1	3	125	3,01	3,18	4,48	11,40	N
204	446	1	4	125	2,86	3,04	4,45	11,01	N
205	638	2	1	37	3,51	3,15	4,55	12,00	N
206	686	2	2	37	3,42	3,10	4,35	11,77	P
207	1.087	3	3	37	3,44	3,25	4,46	11,94	N
208	710	2	4	37	3,49	3,36	4,53	12,25	P
209	117	1	1	44	3,28	2,83	4,56	11,43	P
210	96	1	2	44	2,70	2,61	4,13	10,25	N
211	145	1	3	44	2,64	2,97	4,47	10,82	N
212	184	1	4	44	2,89	3,00	4,34	11,02	N
213	167	1	1	49	3,44	3,19	4,50	11,98	P
214	151	1	2	49	3,57	3,09	4,39	11,96	P
215	199	1	3	49	3,51	3,09	4,46	11,82	P
216	427	1	4	49	3,28	3,05	4,39	11,54	N
217	1.027	3	1	50	3,33	3,21	4,32	11,60	P
218	1.319	3	2	50	3,29	3,07	4,15	11,36	P
219	993	2	3	50	3,27	3,03	4,19	11,21	N
220	1.379	3	4	50	3,00	2,95	3,74	10,36	N
221	428	1	1	51	3,36	3,14	4,62	11,92	N
222	376	1	2	51	3,58	3,12	4,43	12,04	N
223	530	2	3	51	3,41	3,20	4,58	11,98	P
224	410	1	4	51	3,11	3,27	4,53	11,77	N
225	383	1	1	52	3,55	3,18	4,65	12,19	N
226	315	1	2	52	3,54	3,07	4,46	11,99	N
227	439	1	3	52	3,62	3,15	4,57	12,15	N
228	380	1	4	52	3,70	3,21	4,46	12,21	N
229	296	1	1	53	3,73	3,12	4,49	12,27	N
230	246	1	2	53	3,63	3,20	4,61	12,23	N
231	342	1	3	53	3,81	3,16	4,49	12,31	N
232	315	1	4	53	4,12	3,47	4,60	12,94	N
233	111	1	1	55	3,60	3,34	4,41	12,13	N
234	252	1	2	55	3,99	3,24	4,38	12,52	N
235	215	1	3	55	3,66	3,32	4,48	12,24	N
236	186	1	4	55	3,44	3,37	4,43	12,10	N
237	227	1	1	56	3,20	2,89	4,70	11,58	N
238	643	2	2	56	3,25	2,90	4,49	11,55	N
239	469	1	3	56	3,11	3,24	4,58	11,81	N
240	877	2	4	56	5,79	3,20	4,54	14,27	N
241	428	1	1	57	3,42	3,09	4,39	11,65	N
242	536	2	2	57	3,53	3,04	4,23	11,66	N
243	289	1	3	57	3,34	3,22	4,38	11,78	P
244	707	2	4	57	3,70	3,29	4,46	12,04	N
245	187	1	1	58	3,09	3,09	4,62	11,60	P
246	119	1	2	58	2,82	3,12	4,45	11,32	N
247	154	1	3	58	3,37	3,26	4,59	12,10	P
248	18	1	4	58	1,81	3,39	4,75	10,51	N
249	691	2	1	64	3,15	2,96	4,29	11,12	N
250	593	2	2	64	2,89	2,91	4,15	10,79	P
251	821	2	3	64	3,23	2,98	4,27	11,22	N
252	651	2	4	64	3,35	3,08	4,20	11,41	N
253	1.141	3	1	66	4,03	3,57	4,25	12,60	P
254	565	2	2	66	3,13	3,54	4,64	12,14	P
255	488	1	3	66	3,66	3,75	4,55	12,55	N
256	379	1	4	66	3,99	3,79	4,55	12,94	P
257	141	1	1	68	4,58	3,81	4,60	13,83	N
258	204	1	2	68	4,50	3,87	4,63	13,90	N
259	100	1	3	68	4,16	3,99	4,67	13,57	N
260	145	1	4	68	4,53	4,00	4,72	14,17	N
261	536	2	1	69	3,20	3,03	4,56	11,57	P

Continua

APÊNDICE 2B - BANCO DE DADOS - AVALIAÇÃO DA CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS

Nº	CCS (x 1000)	SUB GRUPO	Nº DA AMOSTRA	Nº DO PRODUTOR	% DE GORDURA	% DE PROTEÍNA	% DE LACTOSE	% SÓLIDOS TOTAIS	Conclusão	
									ANTIMI- CROBIANO	
262	611	2	2	69	3,17	2,95	4,61	11,58	N	
263	430	1	3	69	3,51	3,16	4,62	12,03	P	
264	399	1	4	69	3,02	3,18	4,71	11,69	N	
265	1.305	3	1	70	3,32	3,13	4,49	11,60	N	
266	1.471	3	2	70	3,19	3,28	4,41	11,55	N	
267	2.164	4	3	70	4,26	3,37	4,39	12,64	N	
268	1.374	3	4	70	3,12	3,18	4,43	11,47	N	
269	477	1	1	71	4,55	3,80	4,54	13,71	P	
270	361	1	2	71	4,39	3,89	4,54	13,75	P	
271	394	1	3	71	4,33	3,79	4,63	13,59	N	
272	560	2	4	71	4,28	3,73	4,68	13,54	N	
273	487	1	1	102	3,68	3,34	4,36	12,21	N	
274	25	1	2	102	2,25	3,29	4,71	11,02	P	
275	382	1	3	102	4,03	3,37	4,48	12,60	N	
276	934	2	4	102	4,04	3,42	4,45	12,70	N	
277	769	2	1	123	2,80	3,08	4,44	11,07	N	
278	632	2	2	123	3,12	3,06	4,50	11,52	P	
279	731	2	3	123	3,24	3,18	4,58	11,74	N	
280	946	2	4	123	3,53	3,31	4,58	12,15	N	
281	312	1	1	59	3,27	3,09	4,62	11,77	N	
282	206	1	2	59	3,33	3,01	4,51	11,78	N	
283	368	1	3	59	3,35	3,12	4,53	11,85	P	
284	616	2	4	59	3,51	3,22	4,64	12,12	N	
285	338	1	1	60	3,60	3,11	4,41	11,88	N	
286	480	1	2	60	3,58	3,17	4,37	12,03	N	
287	305	1	3	60	3,58	3,35	4,45	12,23	N	
288	380	1	4	60	3,49	3,25	4,60	12,09	N	
289	917	2	1	61	3,16	2,88	4,47	11,26	N	
290	856	2	2	61	3,13	2,91	4,38	11,31	P	
291	667	2	3	61	3,09	3,05	4,51	11,48	P	
292	1.283	3	4	61	3,74	3,47	4,68	12,73	N	
293	164	1	1	63	3,40	3,05	4,56	11,87	N	
294	265	1	2	63	3,55	3,11	4,53	12,12	N	
295	645	2	3	63	3,90	3,29	4,75	12,84	N	
296	227	1	4	63	3,41	3,21	4,63	12,14	N	
297	521	2	1	65	3,00	3,10	4,58	11,46	N	
298	463	1	2	65	2,90	3,22	4,73	11,60	P	
299	459	1	3	65	3,21	3,30	4,68	11,94	N	
300	274	1	4	65	3,51	3,44	4,66	12,23	N	
301	455	1	1	124	4,21	3,11	4,51	12,68	N	
302	124	1	2	124	4,14	3,02	4,33	12,29	N	
303	178	1	3	124	2,75	3,17	4,64	11,25	N	
304	539	2	4	124	3,92	3,24	4,49	12,37	N	
305	778	2	1	126	3,55	3,25	4,37	12,00	N	
306	1.239	3	2	126	3,68	3,26	4,37	12,04	N	
307	716	2	3	126	3,82	3,40	4,61	12,56	N	
308	482	1	4	126	3,66	3,46	4,50	12,22	P	
309	633	2	1	129	5,60	4,03	4,52	14,83	P	
310	580	2	2	129	4,06	3,66	4,49	13,05	N	
311	323	1	3	129	3,74	3,70	4,57	12,85	N	
312	624	2	4	129	4,56	3,55	4,35	13,22	N	
313	250	1	1	133	3,34	3,07	4,69	11,85	P	
314	241	1	2	133	3,48	3,17	4,70	12,09	P	
315	215	1	3	133	3,95	3,34	4,73	12,70	N	
316	206	1	4	133	4,16	3,38	4,72	12,94	P	
317	562	2	1	134	3,57	3,10	4,52	11,90	P	
318	402	1	2	134	3,29	3,09	4,72	11,82	N	
319	339	1	3	134	3,45	3,37	4,62	12,06	N	
320	333	1	4	134	3,65	3,26	4,67	12,23	N	

APÊNDICE 3 - LISTA DOS MEDICAMENTOS UTILIZADOS PELOS PRODUTORES

QUADRO 04 - PERÍODO DE CARÊNCIA E DOSAGEM RECOMENDADA DOS MEDICAMENTOS VETERINÁRIOS UTILIZADOS PELOS PRODUTORES PESQUISADOS

continua

Nome comercial	Princípio (s) ativo (s)	Dose, intervalo e número de aplicações (bula)	Período de carência (bula)
Agromastit	fenoximetilpenicilina potássica + estreptomicina	10 ml/quarto; 24 hs; aplicar até fim dos SC	4 dias
Agrovet 5.000.000	penicilina g procaína + potássica + estreptomicina	1 ml/ 35 kg PV/ 24hs/ n.º aplic. variável a crit. Med. Vet.	2 dias
Agrovet PS	dihidroestrepto-micina + penicilina g procaína	1 ml/ 20 kg; 24 hs/ vari aplicar até 48 hs após fim dos sintomas	3 dias
Anamastite	Cloxacilina sódica	10 ml/quarto/DU/24 ou 48 hs se necessário	não consta ⁽²⁾
Bivatop 200	oxitetraciclina di-hidratada	1 ml/ 10 kg	não consta ⁽¹⁾
Borgal	sulfadoxina + trimetoprim	20 - 30 ml; DU	não consta
Cefamix	cefoperazone sódica	10 ml / quarto/ 24 hs / DU / ou maior grav. mais aplicações	3,5 dias
Cefalac	cefapirina sódica	1 seringa de 10ml/quarto/12hs/1 a 3 doses	4 dias
Cefavet	cefoperazone sódica	10 ml/quarto	3,5 dias ⁽¹⁾
Cyamycin LA 20%	oxitetraciclina	1 ml/10 kg PV Imusc./ 15 ml/ 3 a 4 dias	*
Diastin	sulfametoxazol + trimetoprim	1ml/ 15 kg PV	não consta ⁽²⁾
Excenel RTU	ceftiofur	1 ml/50 kg PV; 24 hs; 3 aplicações	sem prazo ⁽¹⁾
Flumast	espiramicina + neomicina	10 ml/quarto; DU	4 dias
Gentocin Mastite 150 mg	gentamicina	10 ml/quarto; 24 hs; 3 aplicações	4 dias
Gentrin Infusão uterina	gentamicina	50 a 100 ml/infusão; DU	1 dia
Ginovet	clonidrato de tetraciclina + nitrofurazona	2-3 tabletesm	7 dias ⁽¹⁾
Kaba	cloranfenicol levógero	200 ml; + 3 a 5 dias	não consta ⁽¹⁾
Leocelin Mastite Aguda	dihidroestreptomicina + penetamato + frameticina	5 ml/quarto; 24hs; 1 ou + vezes	3 dias
Mastical	sulfadiazina + nistadina	10 ml/quarto; por 3 dias	3 dias

QUADRO 04 - PERÍODO DE CARÊNCIA E DOSAGEM RECOMENDADA DOS MEDICAMENTOS VETERINÁRIOS UTILIZADOS PELOS PRODUTORES PESQUISADOS

Continua

Nome comercial	Princípio (s) ativo (s)	Dose, intervalo e número de aplicações (bula)	Período de carência (bula)
Mastifin	gentamicina	10 ml/quarto; 24 hs; 3 aplicações	4 dias
Norflomax injetável	nicotinato de norfloxacin	1 ml/ 30 kg; 24 hs/ 3 a 5 aplicações	5 dias ⁽¹⁾
Newmast	espiramicina + neomicina	10 ml/quarto; DU	6 dias
Oxirat - LA	cloridrato de oxitetraciclina	1 ml/ 10 kg PV; DU	*
Orbeninn Extra DC	cloxacilina	3,6 g; DU	42 dias
Pathozone	cefoperazone sódica	10 ml/quarto; DU	3 dias e meio
Pentabiótico veterinário reforçado	Benzilpenicilina benzatina + procaína + potássica + sulfato de estreptomicina + dihidroestreptomicina	5-6 ml/ 100 kg PV; 120 horas; 2 aplicações	3 dias
Pen & Strep	penicilina procaína + dihidroestreptomicina	1 ml/25 kg; 24 hs; 5 aplicações	3 dias
Pirsue gel aquoso	cloridrato de pirlimicina	10 ml/quarto; 24 hs; 2 aplicações	1 dia e meio
Pencivet e Septipen	penicilina g benzatina + procaína + potássica + sulfato de estreptomicina	8.000 UI a 24.000 UI/kg PV; 72 horas; aplicar até fim dos sintomas	*
Promastic	cloridrato de oxitetraciclina + sulfato de neomicina	10 ml/quarto/DU? 24 hs/ Até cura	não consta ⁽²⁾
Rilexine 200	cefalexina + sulfato de neomicina	10 ml/quarto; DU	3 dias e meio
Talcin	cloridrato de tetraciclina	1,7-3,4 ml/50 kg PV	*
Terramicina solução injet.	cloridrato de oxitetraciclina	3-5 mg/kg PV	*
Tetrabiótico	cloridrato de tetraciclina	1 frasco/ 400 kg PV; 24 hs; aplicar até fim dos sintomas	não consta
Tetradelta	penicilina g procaína + novobiocina + sulfato de polimixina b + dihidroestreptomicina base	1 seringa de 10 ml/quarto/ D.U./ casos graves repetir intervalos de 24 ou 48 hs	3 dias
Tribissen injetável	trimetropin + sulfadiazina	5 ml/ até 150 kg; 10 ml/ de 150 a 300 kg; 15 ml/ de 300 a 450 kg; acima 450 kg mais 1 ml/ 30 kg	3 dias

QUADRO 04 - PERÍODO DE CARÊNCIA E DOSAGEM RECOMENDADA DOS MEDICAMENTOS VETERINÁRIOS UTILIZADOS PELOS PRODUTORES PESQUISADOS

			Conclusão
Nome comercial	Princípio (s) ativo (s)	Dose, intervalo e número de aplicações (bula)	Período de carência (bula)
Trexin	cloridrato de tetraciclina	20 mg kg peso ou 40 ml para 400 kg/ 24 hs/ mod. A crit. M.V.	*
Tetradur LA - 300	di-hidrato de oxitetraciclina	1 ml/ 10 kg PV	*
Tylan 200	tilosina	0,5 – 1ml/20 kg PV/24hs/1 ou + até 5 dias	3 dias
Tyladen	tilosina	5 ml/ 100 kg PV; 3 dias no mínimo	*
Ungüento Intram. Vallee	sulfanilamida + cloridrato de tetraciclina	1 bisnaga de 10 ml/ 24 hs	3 dias

FONTE: Dados brutos

NOTAS: O período de carência recomendado foi extraído das bulas de medicamentos, Manual do SINDAN - 1999 e Compêndio Veterinário - 30º Ed. 1999.

(1) Manual do SINDAN.

(2) Compêndio Veterinário.

* Medicamento não indicado para uso em vacas lactantes.

APÊNDICE 4 - RESULTADOS ESTATÍSTICOS

TABELA 12 - REALIZAÇÃO DE EXAMES DE MASTITE EM RELAÇÃO AO VOLUME DE PRODUÇÃO

VOLUME DE PRODUÇÃO	REALIZA		NÃO REALIZA		TOTAL	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Até 200	23	35,4	08	53,4	31	38,8
201 a 400	18	27,7	02	13,3	20	25,0
401 a 800	14	21,5	05	33,3	19	23,7
Mais de 800	10	15,4	-	-	10	12,5
TOTAL	65	100,0	15	100,0	80	100,0
• % do Total		81,2		18,8		-

Geral $\rightarrow z_{\text{calc}} = 7,735$; $p < 0,0001$ (Proporção);

$\chi^2_{\text{calc}} = 2,06$; $p = 0,3567$ (Qui-Quadrado).

TABELA 13 - FREQUÊNCIA DOS EXAMES DE MASTITE EM RELAÇÃO AO VOLUME DE PRODUÇÃO

VOLUME DE PRODUÇÃO	SEMANAL ⁽¹⁾		OCASIONAL		TOTAL	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Até 200	16	48,5	07	21,9	23	35,4
201 a 400	09	27,3	09	28,1	18	27,7
401 a 800	03	9,1	11	34,4	14	21,5
Mais de 800	05	15,1	05	15,6	10	15,4
TOTAL	33	100,0	32	100,0	65	100,0
• % do Total		50,8		49,2		-

1 Considerado Semanal e/ou Quinzenal.

Geral $\rightarrow z_{\text{calc}} = 0,007$; $p = 0,994$ (Proporção);

$\chi^2_{\text{calc}} = 6,17$; $p = 0,0456$ (Qui-Quadrado).

TABELA 14 - DOENÇAS EM VACAS LEITEIRAS

DOENÇAS	PERCENTUAL
Mastite	70,4
Retenção de Placenta	11,3
Metrite	5,9
Infecção no Casco	5,4
Babesiose	4,8
Aborto	2,2

Mastite $\rightarrow z_{\text{calc}} = 4,550$; $p < 0,0001$ (Proporção);

QUADRO 5 - AVALIAÇÃO DO USO DE MEDICAMENTOS
EM RELAÇÃO À DOSAGEM E CARÊNCIA
UTILIZADA

USO DE MEDICAMENTOS	NÚMERO (n = 186)	PERCENTUAL
DOSAGEM APLICADA	136	73,1
• Seguiu a bula	20	14,7
• Super Dosagem	62	45,6
• Sub Dosagem	13	9,6
• Uso não recomendado	41	30,1
CARÊNCIA UTILIZADA	167	89,8
• Respeitou	90	53,9
• Não Respeitou	28	16,8
• Uso não recomendado	41	24,6
• Não Prevista	08	4,8

Dosagem utilizada $\rightarrow z_{\text{calc}} = 1,330$; $p=0,183$ e Carência utilizada $\rightarrow z_{\text{calc}} = 1,316$; $p=0,188$ (Proporção).

TABELA 15 - AVALIAÇÃO ANTIMICROBIANA EM RELAÇÃO ÀS
CONTAGENS DE CÉLULAS SOMÁTICAS

CCS (por mil) (células / ml)	POSITIVO		NEGATIVO		TOTAL	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Até 500	41	50,0	142	59,7	183	57,2
501 a 1.000	31	37,8	62	26,1	93	29,1
1.001 a 1.500	07	8,5	22	9,2	29	9,0
Mais de 1.500	03	3,7	12	5,0	15	4,7
TOTAL	82	100,0	238	100,0	320	100,0

$\chi^2_{\text{calc}} = 4,18$; $p = 0,2429$ (Qui-Quadrado).

Até 500 $\rightarrow z_{\text{calc}}=1,402$; $p=0,161$; 501 a 1000 $\rightarrow z_{\text{calc}}=1,871$; $p=0,061$; 1001 a 1500 $\rightarrow z_{\text{calc}}=-0,033$; $p=0,974$; Mais de 1500 $\rightarrow z_{\text{calc}}=0,178$; $p=0,859$ (Proporção).

QUADRO 6 - PERFIL DOS PRODUTORES ESTUDADOS EM RELAÇÃO À AVALIAÇÃO
ANTIMICROBIANA / PROPRIEDADE

DADOS	POSITIVO (n = 60)		NEGATIVO (n = 20)		TOTAL (n = 80)	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
AVALIAÇÃO ANTIMICROBIANA						
• Positivo Propriedade	60	100,0	-	-	60	75,0
• Negativo Propriedade	-	-	20	100,0	20	25,0
VOLUME DE PRODUÇÃO						
• Até 200	24	40,0	07	35,0	31	38,8
• 201 a 400	16	26,7	04	20,0	20	25,0
• 401 a 800	13	21,7	06	30,0	19	23,7
• Mais de 800	07	11,6	03	15,0	10	12,5
REGIÃO						
• Lapa	20	33,3	10	50,0	30	37,5
• São José dos Pinhais	29	48,4	06	30,0	35	43,8
• Piraquara	05	8,3	04	20,0	09	11,2
• Demais Municípios	06	10,0	-	-	06	7,5
NÚMERO DE VACAS						
• Média \pm desvio padrão	40,5 \pm	45,5	34,2 \pm	30,2	38,9 \pm	42,1
• Mínimo e máximo	6,0 e	280,0	5,0 e	122,0	5,0 e	280,0
• Mediana	25,0		22,5		24,5	
RAÇA PREDOMINANTE						
• Holandesa	54	90,0	17	85,0	71	88,8
• Jersey	05	8,3	03	15,0	08	10,0
• Mestiça	01	1,7	-	-	01	1,2
VOLUME MÉDIO DE LEITE / DIA						
• Produção						
• Média \pm desvio padrão	539,4 \pm	907,3	520,3 \pm	632,6	534,6 \pm	843,3
• Mínimo e máximo	20,0 e	6000,0	25,0 e	2800,0	20,0 e	6000,0
• Mediana	291,0		335,0		291,0	
• Por Vaca						
• Média \pm desvio padrão	14,6 \pm	4,6	16,7 \pm	5,6	15,2 \pm	4,9
• Mínimo e máximo	5,0 e	26,4	7,8 e	27,0	5,0 e	27,0
• Mediana	14,2		16,4		14,5	

QUADRO 7 - FATORES DE RISCO EM RELAÇÃO À AVALIAÇÃO ANTIMICROBIANA

DADOS	POSITIVO (n = 60)		NEGATIVO (n = 20)		TOTAL (n = 80)	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
ASSISTÊNCIA VETERINÁRIA						
• Ocasional	52	86,7	16	80,0	68	85,0
• Permanente	08	13,3	04	20,0	12	15,0
PROCEDIMENTO DE ORDENHA TRATAMENTO						
• Não Separa	05	8,3	02	10,0	07	8,8
• Separa	55	91,7	18	90,0	73	91,2
DESTINO DO LEITE EM TRATAMENTO						
• Alimentação dos Animais	47	78,3	19	95,0	66	82,5
• Descarte	13	21,7	01	5,0	14	17,5
DESCARTE DO LEITE (Apenas do quarto tratado)						
• Sim	24	40,0	09	45,0	33	41,2
• Não	36	60,0	11	55,0	47	58,8
IDENTIFICAÇÃO DOS ANIMAIS EM TRATAMENTO						
• Sim	09	15,0	03	15,0	12	15,0
• Não	51	85,0	17	85,0	68	85,0
REGISTRO DO TRATAMENTO DOS ANIMAIS						
• Sim	20	33,3	05	25,0	25	31,2
• Não	40	66,7	15	75,0	55	68,8
TRATAMENTO DE VACA SECA						
• Sim	29	48,3	12	60,0	41	51,3
• Não	16	26,7	05	25,0	21	26,2
• Ocasional	15	25,0	03	15,0	18	22,5
REALIZAÇÃO DE EXAMES DE MASTITE						
• Não	10	16,7	05	25,0	15	18,8
• Sim	50	83,3	15	75,0	65	81,2
• Semanal / Quinzenal	24	48,0	09	60,0	33	50,8
• Ocasional	26	52,0	06	40,0	32	49,2

Continua

QUADRO 7 - FATORES DE RISCO EM RELAÇÃO À AVALIAÇÃO ANTIMICROBIANA

Conclusão

DADOS	POSITIVO (n = 60)		NEGATIVO (n = 20)		TOTAL (n = 80)	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
USO DE ANTIMICROBIANOS						
• Não Utilizou / Não Respondeu	10	16,6	03	15,0	13	16,2
• Usou Medicação Autorizada	28	46,7	10	50,0	38	47,5
• Usou Medicação Proibida	22	36,7	07	35,0	29	36,3
DOSAGEM UTILIZADA						
• Não Utilizou / Não Respondeu	15	25,0	05	25,0	20	25,0
• Uso de Acordo	05	8,3	03	15,0	08	10,0
• Super Dosagem	40	66,7	12	60,0	52	65,0
CARÊNCIA UTILIZADA						
• Não Utilizou / Não Respondeu	16	26,7	04	20,0	20	25,0
• Respeitou a Carência	12	20,0	09	45,0	21	26,2
• Não Respeitou a Carência	32	53,3	07	35,0	39	48,8
INCIDÊNCIA DE ANTIMICROBIANO						
• Uma vez	41	68,3	-	-	41	51,2
• Duas vezes	16	26,7	-	-	16	20,0
• Três vezes	03	5,0	-	-	03	3,8
• Nenhuma vez	-	-	20	100,0	20	25,0

QUADRO 8 - RESULTADO DOS TESTES APLICADOS NA COMPARAÇÃO DOS DADOS EM RELAÇÃO À AVALIAÇÃO ANTIMICROBIANA

DADOS	RESULTADO DO TESTE	TESTE APLICADO	VALOR TABELADO	SIGNIFICÂNCIA
PERFIL DOS PRODUTORES				
• Avaliação Antimicrobiana	6,166	Proporção	$p < 0,0001$	S
• Volume de Produção	0,94	Qui-Quadrado	$p = 0,8169$	NS
• Região	2,29	"	$p = 0,3189$	NS
• Número de Vacas	0,539	Mann-Whitney	$p = 0,590$	NS
• Raça Predominante	-	Fisher	$p = 0,3992$	NS
• Volume Médio de Leite / Dia	0,361	Mann-Whitney	$p = 0,718$	NS
• Volume Médio de Vaca / Dia	1,556	Mann-Whitney	$p = 0,120$	NS
FATORES DE RISCO				
• Assistência Veterinária	-	Fisher	$p = 0,3455$	NS
• Procedimento de Ordenha	-	"	$p = 0,5632$	NS
• Destino do Leite	-	"	$p = 0,0800$	NS
• Descarte do Leite	0,02	Qui-Quadrado	$p = 0,8957$	NS
• Identificação dos Animais	-	Fisher	$p = 0,6252$	NS
• Registro do Tratamento	0,17	Qui-Quadrado	$p = 0,6761$	NS
• Tratamento de Vaca Seca	1,08	"	$p = 0,5825$	NS
• Realização de Exames de Mastite	-	Fisher	$p = 0,3012$	NS
• Frequência	0,27	Qui-Quadrado	$p = 0,6024$	NS
• Uso de Medicamentos	0,07	"	$p = 0,9645$	NS
• Dosagem Utilizada	0,77	"	$p = 0,6807$	NS
• Carência Utilizada	4,87	Qui-Quadrado	$p = 0,0875$	NS

QUADRO 9 - ESTATÍSTICA DESCRITIVA DOS DADOS EM ESTUDO, SEGUNDO OS INTERVALOS DE CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS

DADOS	Nº	MÉDIA	DESVIO PADRÃO	MÍNIMO	MÁXIMO	MEDIANA
ATÉ 500 mil células / mL						
• CCS (por mil)	183	282,73	⁽¹⁾ 127,84	18,00	498,00	291,00
• % de Gordura	183	3,53	0,52	1,81	5,68	-
• % de Proteína	183	3,20	0,27	2,61	4,51	-
• % de Lactose	183	4,52	0,17	4,10	5,10	-
• % de Sólidos Totais	183	12,03	0,70	10,10	14,17	-
501 a 1.000 mil células / mL						
• CCS (por mil)	93	679,10	139,50	504,00	993,00	-
• % de Gordura	93	3,64	0,53	2,80	5,79	-
• % de Proteína	93	3,23	0,25	2,72	4,03	-
• % de Lactose	93	4,44	0,17	4,02	4,93	-
• % de Sólidos Totais	93	12,07	0,79	10,66	14,83	-
1.001 a 1.500 mil células / mL						
• CCS (por mil)	29	1 214,55	144,86	1 018,00	1 484,00	-
• % de Gordura	29	3,61	0,47	2,81	4,47	-
• % de Proteína	29	3,26	0,22	2,86	3,80	-
• % de Lactose	29	4,36	0,18	3,74	4,68	-
• % de Sólidos Totais	29	11,97	0,72	10,36	13,25	-
ACIMA DE 1.500 mil células / mL						
• CCS (por mil)	15	2 196,00	⁽¹⁾ 693,48	1 519,00	3 849,00	1 877,00
• % de Gordura	15	3,47	0,59	2,00	4,26	-
• % de Proteína	15	3,23	0,29	2,73	3,89	-
• % de Lactose	15	4,30	0,16	3,92	4,49	-
• % de Sólidos Totais	15	11,68	0,82	10,09	12,64	-
TOTAL GERAL						
• CCS (por mil)	320	572,05	⁽¹⁾ 500,78	18,00	3 849,00	446,00
• % de Gordura	320	3,57	0,52	1,81	5,79	-
• % de Proteína	320	3,22	0,26	2,61	4,51	-
• % de Lactose	320	4,47	0,18	3,74	5,10	-
• % de Sólidos Totais	320	12,02	0,74	10,09	14,83	-

(1) Desvio padrão muito elevado, recomenda-se utilizar a mediana.

QUADRO 10 - CORRELAÇÃO ENTRE A CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS COM OS CONSTITUINTES DO LEITE

DADOS	RESULTADO DO TESTE	CORRELAÇÃO (r)	VALOR TABELADO	SIGNIFICÂNCIA
ATÉ 500 mil células / mL				
• % de Gordura	1,968	0,1447	p = 0,0506	NS
• % de Proteína	0,388	0,0288	p = 0,6983	NS
• % de Lactose	- 2,026	-0,1489	p = 0,0443	S
• % de Sólidos Totais	0,866	0,0643	p = 0,3873	NS
501 a 1.000 mil células / mL				
• % de Gordura	- 1,142	-0,1189	p = 0,2564	NS
• % de Proteína	- 0,787	-0,0822	p = 0,4331	NS
• % de Lactose	- 1,768	-0,1822	p = 0,0804	NS
• % de Sólidos Totais	- 1,484	-0,1412	p = 0,1412	NS
1.001 a 1.500 mil células / mL				
• % de Gordura	- 1,167	-0,2192	p = 0,2532	NS
• % de Proteína	- 1,037	-0,1956	p = 0,3091	NS
• % de Lactose	- 0,583	-0,1115	p = 0,5649	NS
• % de Sólidos Totais	- 1,235	-0,2313	p = 0,2274	NS
ACIMA DE 1.500 mil células / mL				
• % de Gordura	- 1,492	- 0,3823	p = 0,1596	NS
• % de Proteína	0,185	0,0513	p = 0,8560	NS
• % de Lactose	- 2,422	- 0,5576	p = 0,0308	S
• % de Sólidos Totais	- 1,363	- 0,3536	p = 0,1960	NS
TOTAL GERAL				
• % de Gordura	- 0,091	- 0,0051	p = 0,9530	NS
• % de Proteína	0,905	0,0507	p = 0,3755	NS
• % de Lactose	- 7,548	- 0,3898	p < 0,00001	S
• % de Sólidos Totais	- 1,981	- 0,1104	p = 0,0483	S

NOTA: Aplicado o Coeficiente de Correlação de Pearson.

QUADRO 11 - CORRELAÇÃO ENTRE OS INTERVALOS DO CCS COM OS CONSTITUINTES DO LEITE

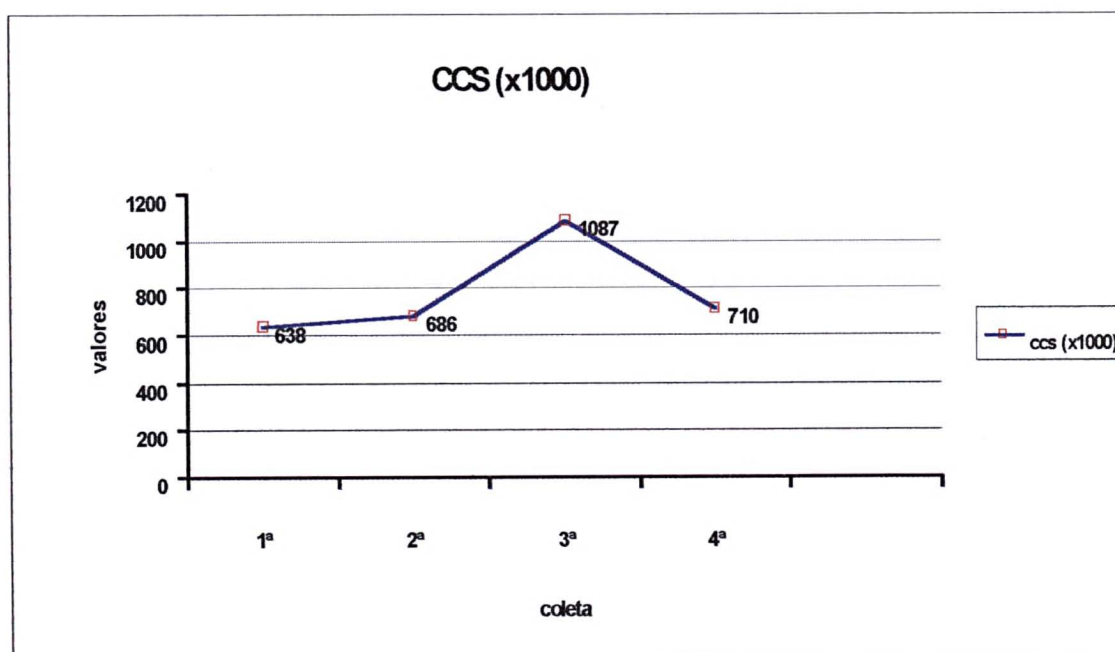
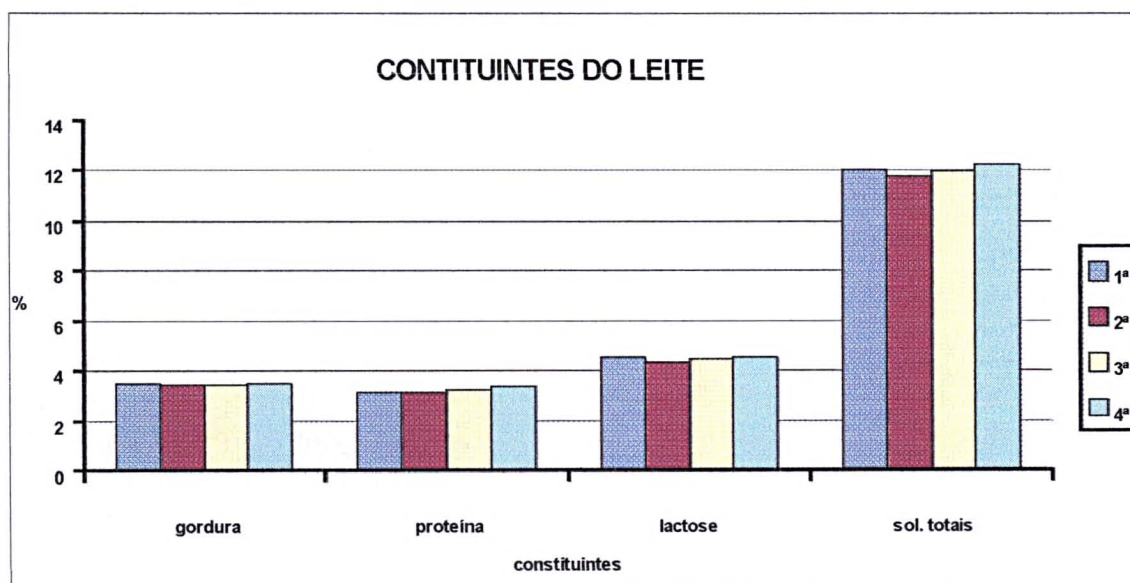
DADOS	RESULTADO DO TESTE	VALOR TABELADO	SIGNIFICÂNCIA
% de Gordura	1,15	p = 0,329	NS
% de Proteína	0,61	p = 0,611	NS
% de Lactose	15,19	p < 0,0001	S
% de Sólidos Totais	1,27	p = 0,284	NS

NOTA: Aplicado Análise de Variância (ANOVA).

APÊNDICE 5 - RESULTADOS ENTREGUES AO PRODUTOR

RESULTADO DE ANÁLISES
PRODUTOR N.º 37 – MUNICÍPIO: Lapa

data da amostra	coleta	% gordura	% proteína	% lactose	% sol. totais	ccs (x1000)	antimicrobiano
23/01	1ª	3,51	3,15	4,55	12,00	638	-
08/02	2ª	3,42	3,10	4,35	11,77	686	+
20/02	3ª	3,44	3,25	4,46	11,94	1087	-
14/03	4ª	3,49	3,36	4,53	12,25	710	+



ORIENTAÇÕES BÁSICAS PARA EVITAR RESÍDUOS ANTIMICROBIANOS NO LEITE

Antimicrobianos

No tratamento de mastites e outras infecções em vacas leiteiras são utilizados medicamentos antimicrobianos, os quais podem resultar em resíduos no leite.

Além desses antibióticos e quimioterápicos aplicados na mastite, os pesticidas usados no controle de carrapatos, os vermífugos no combate às verminoses e os detergentes e desinfetantes na limpeza de equipamentos e utensílios, podem ser a causa dos resíduos antimicrobianos no leite.

Problemas causados por resíduos antimicrobianos no leite

Existem muitos motivos para se evitar resíduos antimicrobianos no leite. Entre os principais problemas de saúde estima-se que em torno de 5% da população sofra de reações alérgicas, mesmo através de quantidades muito pequenas de penicilina. Além das penicilinas, outros antimicrobianos podem desencadear estas reações.

Como os antibióticos utilizados em animais são na sua maioria de uso em humanos, a ingestão freqüente de pequenas doses através do leite pode levar os microrganismos a desenvolverem resistência aos antibióticos, dificultando a cura de doenças no homem.

Também causam graves problemas de saúde o cloranfenicol e os nitrofuranos, por possuírem risco de provocar mutações genéticas de várias naturezas, levando a efeitos cancerígenos. Atualmente estes produtos estão proibidos para uso em animais produtores de alimentos.

Nos laticínios os prejuízos são grandes, haja visto que quantidades muito pequenas destes resíduos podem interromper o processamento dos alimentos, impedindo a fabricação de iogurte e demais produtos fermentados, causando problemas na coagulação do leite e maturação dos queijos.

Cuidados básicos para evitar resíduos de antimicrobianos no leite

- ➡ Reduzir a ocorrência de mastite no rebanho através de medidas preventivas de higiene durante a ordenha, higiene dos ordenhadores, limpeza dos equipamentos e utensílios de ordenha a cada uso e manutenção de ambientes limpos e secos.
- ➡ Realizar exames de mastite na rotina das ordenhas, para identificação precoce desses casos.
- ➡ Identificar através de pulseira, tinta ou outra marcação, todas as vacas em tratamento e ordenhá-las separadamente até o final do período de carência.
- ➡ Ordenhar separadamente as vacas em tratamento até a liberação do leite, pois a ordenha de apenas uma vaca com resíduos antimicrobianos é suficiente para contaminar o leite de até 20 vacas.
- ➡ No momento de comprar o medicamento observar se o mesmo contém informações básicas no rótulo: nome do fabricante, endereço e CNPJ, número do lote ou partida, data de fabricação e prazo de vencimento, número da licença no Ministério da Agricultura, nome do responsável técnico e seu número de inscrição no respectivo conselho profissional, fórmula, volume e condições de conservação do produto.
- ➡ Armazenar os medicamentos em local próprio, longe do alcance de crianças e animais, seguindo as orientações de conservação orientadas pelo fabricante. Evitar guardar restos de medicamentos após o fim do tratamento.
- ➡ Verificar ao adquirir antimicrobianos se os mesmos não são proibidos para vacas lactantes.
- ➡ Não utilizar antibióticos para tratamento de vacas secas em vacas em lactação, pois os mesmos persistem por longo tempo no úbere.
- ➡ Respeitar rigorosamente o período de carência dos medicamentos, o qual é variável para cada produto.

- ➡ Utilizar os antibióticos em doses e intervalos de aplicação seguindo a recomendação da bula, pois qualquer modificação altera o período de carência previsto. O aumento da dose e modificação do esquema de tratamento é responsabilidade do médico veterinário.
- ➡ Evitar a utilização de diferentes antimicrobianos em um mesmo tratamento, pois o tempo de eliminação de resíduos no leite pode ficar aumentado.
- ➡ Descartar todo o leite de vacas lactantes em tratamento durante o período de carência, pois foi comprovado que o leite dos quartos mamários não tratados apresenta resíduos antimicrobianos.
- ➡ Seguir rigorosamente o prazo para administração e o período de carência desses antibióticos de longa duração. Para isso, controlar as datas dos partos, anotando e identificando as vacas com partos antecipados, com diminuição do período seco.
- ➡ Proceder rigorosa higiene na aplicação intramamária de antimicrobianos, com tetas limpas secas e desinfetadas e não reutilizar as cânulas de aplicação.
- ➡ Orientar funcionários e ordenhadores sobre a utilização correta de antibióticos em vacas lactantes.
- ➡ Registrar os dados do tratamento. Como sugestão apresentamos um modelo em anexo.

FONTES: Resíduos de Antimicrobianos no Leite (Maria Aparecida V. P. e Brito/Embrapa).
Mastite e qualidade do Leite (Marcos Veiga dos Santos/Milk Point).
Levantamento do Uso e Detecção da Presença de Antimicrobianos no Leite produzido na Região Metropolitana de Curitiba (Márcia O. Lopes/UFPR).

PROPRIEDADE: _____

ANEXO – PROCEDIMENTO DE ANÁLISE DO KIT CHARM FARM TEST - VIAL

- Air incubator or water bath or Inctronic, mini-incubator, Delvo incubator with Multi-V vial adapters
- Optional water bath rack
- Tweezers
- 0.1ml pipette
- Color chart
- Timer
- 100 µl
- Pipette tips

Kit Contents Order code: FARM-MULTI-V-960

- Charm Farm Multi-V Test Vials (10 plates = 960 vials)
- 960 Farm MV media tablets
- 120 Multiwell sealing strips
- 4 ppb Penicillin G Standard
- Color Chart

Storage

Charm Farm Test Multi-V vials and Media Tablets: Store at 0-4.4 °C for up to 6 months.

Negative Control: Use a known negative sample for negative control.

4 ppb Penicillin G Standards: Store dry standard in refrigerator (0-4.4 °C). The 4 ppb Penicillin G Standard is manufactured from a primary USP standard, meeting PMO requirements. As directed on the label, reconstitute with beta-lactam free milk.

Shake reconstituted standard well. Allow to stand refrigerated or on ice for 15 minutes before use. While in use, standard may be held refrigerated or on ice at 0-4.4 °C for up to 48 hours.

To store reconstituted positive control standard, place approximately 0.5 ml of standard in each test tube; stopper and freeze within 6 hours of reconstitution. Frozen aliquots may be stored for up to 2 months at -15°C or below. Thaw frozen standards with lukewarm tap water. Shake well before using and check that milk has not precipitated. Thawed standards are stable for 24 hours at 0-4.4 °C. Do not refreeze thawed standards.

Cross Reactivity

The Farm Test is designed to be a broad spectrum antibiotic screening test. Table 2 lists some of the other antimicrobial drugs and drug families detected.

No interferences are found from somatic cells (1,000,000 SCC/ml) or bacteria (300,000 cfu/ml).

Lactal secretions from mastitic animals have been reported to contain natural inhibitors which cause positives. Other antimicrobial drugs at levels shown in Table 2 will cause positives. The following drugs, at 100 ppb, showed no interferences: ivermectin; novobiocin; furosemide; trichlormethiazide; chlorothiazide; oxytocin; phenylbutazone; dexamethasone; and dipyrone.

Charm Farm Test Multi-V for Beta-lactams, Sulfonamides, and Other Antimicrobial Drugs Manual for Raw, Commingled, Bovine Milk

The Charm Farm Test is a microbial inhibition assay. Bacteria, cultured in a vial with milk, generate acid which is indicated by color using a pH indicator.

The Farm Test detects beta-lactam drugs at or near EU-MRL (maximum residue limits), see Table 1. In addition it detects other antimicrobials including sulfonamides, gentamicin, tylosin at EU-MRL levels, see Table 2.

Table 1: Concentration of target beta-lactams that cause positive results at or below EU-MRLs.

Beta-lactam Drug	Concentration (ppb) for Positive	EU-MRL (ppb)
Penicillin G	3-4	4 ^φ
Amoxicillin	4	4
Ampicillin	4	4
Ceftiofur	50	100 [§] (metabolite)
Cephapirin	10	10 [§]

Table 2: Concentration range of target antimicrobial drugs that cause positive results compared to EU-MRL.

Antimicrobial Drug*	Concentration Range (ppb) for Positive	EU-MRL (ppb)
Sulfamethazine	50-100	100 ^Ω
Sulfadimethoxine	10	100
Gentamicin	100-300	100 [§]
Oxytetracycline	100-150	100
Tylosin	40-50	50

*Antimicrobial drugs listed are representative of their respective families. Different analogues will have different sensitivities. Test may detect other members of a family.

φ Australian MRL=3ppb

Ω Codex MRL = 25ppb

§ Provisional

Sample Information

Commingled raw bovine milk (milk pooled from 4 or more cows) must be refrigerated and tested within 5 days of milking. Freeze samples for longer storage. Thaw, centrifuge and cool samples before testing. Noticeable precipitation indicates poor sample for testing.

Lacteal screening from mastitic animals has been reported to contain natural inhibitors which can cause a positive response.

Procedure to Test Milk

Preparation: Set dry well incubator with adapters (Inctronic, Delvo Block, mini-incubator-pre-set) temperature to 67°C and allow time for display to reach temperature. Or set non-circulating water bath incubator to 66°C and arrange a floating holder so that water depth immerses at least 2/3 of vial (optional Water Bath Rack or equivalent is required). Or set air incubator to 67°C with 200ml water in beaker for humidification and heat transfer.

1. Peel foil seal of Multi-V vial.
2. Shake milk sample well. Pipet 100 µl sample. Use a new tip with each sample. Deliver milk to agar portion of vial.

First time users: Run a negative control to check Farm Test operation. Pipet 100 µl of negative control in place of milk sample.

3. Add one media tablet to milk in the vial. Do not mix or shake. For multiple samples, prepare all samples following steps 1-2 before proceeding to step 3.
4. Place Multi-V vial or a strip of 8 Multi-V vials on a hard surface. Apply clear sealing tape and press firmly to seal rim of vial(s).
5. Place prepared sample vials into the incubator. Set timer to time specified on kit label (approximately 2 hours and 45 minutes). see **Quality Control Check**.
6. After incubation, remove vials from incubator and observe vial color in comparison to reference colors. Negative control should be comparable to colors 1 or 2, otherwise incubate an additional 15 minutes. See **Interpretation**.

Observe color of middle layer of agar. Read results under cool white fluorescent light up to 1 hour after removal from incubator. Refer to color strip.



Middle Layer

- Yellow or Yellow/green colors (colors 1&2) are negative.
- Blue/ Purple colors (colors 4&5) are suspect positive and should be re-tested.
- Colors between 2&4 should be interpreted as negative.

Quality Control Check

Positive controls are provided to periodically check equipment and reagent performance. Use controls in place of 0.1ml milk sample.

If negative control fails to produce negative result (color 1 or 2) or positive control standard fails to produce a positive result (color 4 or 5), timing may need to be adjusted for your incubator. Discontinue use of test and call Charm Sciences at (781) 322-1523 or fax (781) 322- 3141 for instructions.

**CHARM
SCIENCES INC.** 

36 Franklin Street Malden MA 02148-4120 USA
TEL: 781 322-1523 FAX: 781 322-3141
<http://www.charm.com> email: support@charm.com